



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

MONITORING OBSAHU MASTNÝCH KYSELIN V PRŮBĚHU VÝROBY SÝRŮ

MONITORING OF FATTY ACIDS CONTENT DURING CHEESE PRODUCTION

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Veronika Rajnochová

VEDOUcí PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2017

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1061/2016
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Veronika Rajnochová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **Ing. Eva Vítová, Ph.D.**
Akademický rok: 2016/17

Název diplomové práce:

Monitoring obsahu mastných kyselin v průběhu výroby sýrů

Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární přehled dané problematiky:
 - stručná charakteristika vybraných typů sýrů
 - lipidy a mastné kyseliny v přírodních a tavených sýrech
 - možnosti stanovení mastných kyselin v sýrech - princip, provedení, přehled aplikací
2. Pomocí metody GC-FID identifikujte a kvantifikujte mastné kyseliny ve vzorcích přírodních a tavených sýrů
3. Diskutujte změny obsahu mastných kyselin v průběhu výroby

Termín odevzdání diplomové práce: 5.5.2017

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Veronika Rajnochová
student(ka)

Ing. Eva Vítová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá monitoringem mastných kyselin v průběhu výroby sýrů eidamského typu, tj. přírodní tvrdé sýry s nízkodohřívanou sýřeninou, a v tavených sýrech, které z nich byly vyrobeny.

V teoretické části práce jsou stručně charakterizovány přírodní sýry eidamského typu a tavené sýry, hlavní pozornost je věnována lipidům, mastným kyselinám a možnostem jejich stanovení.

V experimentální části byl sledován obsah mastných kyselin v modelových vzorcích přírodních a tavených sýrů vyrobených na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně. Pro extrakci lipidů ze vzorků byla zvolena metoda podle ČSN EN ISO 1735, pro esterifikaci mastných kyselin metoda podle ČSN EN ISO 5509 s použitím methanolového roztoku hydroxidu draselného. Vzniklé methylestery byly stanoveny pomocí plynové chromatografie s FID detekcí.

ABSTRACT

This master thesis deals with the monitoring of fatty acids during production of natural Edam cheeses, i.e. natural hard cheeses with low heat curd, and of processed cheeses, which were produced from them.

The theoretical part briefly characterizes the natural Edam cheese and processed cheese, the main attention is paid to lipids, fatty acids and the possibility of their determination.

In the experimental part the content of fatty acids in the model samples of natural and processed cheese produced at Tomas Bata University in Zlín was determined. The method according to ISO 1735 was chosen for extraction of lipids from the samples, the method according to ISO 5509 using methanol solution of potassium hydroxide was chosen for the esterification of fatty acids. The resulting methyl esters were determined by gas chromatography with FID detection.

KLÍČOVÁ SLOVA

Sýry, lipidy, mastné kyseliny, plynová chromatografie

KEY WORDS

Cheese, lipids, fatty acid, gas chromatography

RAJNOCHOVÁ, V. *Monitoring obsahu mastných kyselin v průběhu výroby sýrů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 78 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Eva Vítová, Ph.D..

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně a všechny použité literární zdroje jsem odcitovala správně a úplně. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využívána ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

Poděkování:

Ráda bych poděkovala paní Ing. Evě Vítové, Ph.D. za ochotu, laskavost, trpělivost, odborné i cenné rady, které mi usnadnily vypracování této diplomové práce. Také bych chtěla poděkovat své rodině za skvělé zázemí a velkou podporu.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Sýrařství.....	8
2.1.1	Rozdělení sýrů.....	8
2.1.2	Technologie výroby eidamských sýrů.....	10
2.1.3	Tavené sýry	11
2.1.4	Technologie výroby tavených sýrů	12
2.1.5	Tavicí soli	13
2.2	Lipidy obecně	15
2.3	Mastné kyseliny	15
2.3.1	Nasycené mastné kyseliny	15
2.3.2	Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou.....	16
2.3.3	Mastné kyseliny se dvěma a více dvojnými vazbami	16
2.3.4	Mléčný tuk.....	17
2.4	Možnosti stanovení mastných kyselin v sýrech	18
2.4.1	Vzorkování	18
2.4.2	Extrakce.....	19
2.4.3	Esterifikace mastných kyselin	21
2.4.4	Stanovení mastných kyselin	22
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	27
3.1	Chemikálie a laboratorní vybavení.....	27
3.1.1	Chemikálie	27
3.1.2	Plyny.....	27
3.1.3	Přístroje	27
3.1.4	Pomůcky.....	27
3.2	Analyzované vzorky	28
3.3	Pracovní postupy	29
3.3.1	Příprava vzorků k analýze	29
3.3.2	Extrakce lipidů podle ČSN EN ISO 1735	29
3.3.3	Příprava methylesterů mastných kyselin - Metoda podle ČSN EN ISO 5509... ..	29

3.4	Stanovení methylesterů mastných kyselin metodou GC-FID	30
3.5	Identifikace a kvantifikace mastných kyselin ve vzorcích	30
3.6	Statistické zpracování výsledků.....	31
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	32
4.1	Identifikace a kvantifikace mastných kyselin ve vzorcích	32
4.2	Obsah mastných kyselin ve vzorcích sýrů.....	34
4.2.1	Vliv pasteračního zahřevu na poměr nasycených, mono- a polynenasycených mastných kyselin ve vzorcích sýrů	38
4.2.2	Vliv pasteračního zahřevu na obsah jednotlivých mastných kyselin ve vzorcích sýrů	42
4.2.3	Vliv zrání na obsah jednotlivých mastných kyselin ve vzorcích sýrů	45
4.3	Obsah mastných kyselin ve vzorcích tavených sýrů	50
4.3.1	Vliv tavicího zahřevu na poměr nasycených, mono- a polynenasycených mastných kyselin ve vzorcích tavených sýrů	52
4.3.2	Vliv tavicího zahřevu na obsah mastných kyselin ve vzorcích tavených sýrů ..	54
4.4	Změny obsahu mastných kyselin v průběhu výroby sýrů/tavených sýrů	56
5	ZÁVĚR	60
6	LITERATURA	62
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	68
8	SEZNAM PŘÍLOH.....	69

1 ÚVOD

Sýry a mléčné výrobky tvoří velkou část námi konzumovaných potravin. Obsahují významné nutriční složky, jako je vápník, mléčné proteiny a především mléčné tuky. Tuky tvoří velmi významnou část lidské stravy. Udělují potravinám sensorické vlastnosti jako chuť, vůni a texturu. Tuky jsou z pohledu energetického obsahu nejbohatší složky potravin. Jsou důležité pro lidský organismus, fungují jako rozpouštědla důležitých vitaminů a jiných nepolárních látek. Důležitou součástí tuků jsou mastné kyseliny, v lipidech se vyskytuje více druhů mastných kyselin, které se od sebe liší fyzikálními vlastnostmi. V konečném důsledku se i mastné kyseliny podílejí na vlastnostech potravin, jako je nutriční hodnota a textura.

Cílem této diplomové práce bylo stanovení obsahu mastných kyselin v přírodních sýrech eidamského typu a v tavených sýrech z nich vyrobených. Pro extrakci lipidů ze vzorků byla v této práci vybrána metoda podle ČSN EN ISO 1735, pro esterifikaci mastných kyselin metoda podle ČSN EN ISO 5509 s použitím methanolového roztoku hydroxidu draselného. Mastné kyseliny byly stanoveny plynovou chromatografií s FID detekcí.

2 TEORETICKÁ ČÁST

Vzhledem k zaměření této práce jsou v následujících kapitolách nejprve charakterizovány přírodní a tavené sýry se zaměřením na sýry eidamského typu. Pozornost bude věnována, kromě stručné technologie výroby, především jejich složení s důrazem na lipidy a možnosti jejich stanovení.

2.1 Sýrařství

Sýr je bílkovinný koncentrát získaný z mléka, který se vyrábí okyselením nebo enzymovým srážením za pomoci působení mikroorganismů. Sýr vzniká odstraněním vody ze sraženiny, následně podléhá chemickým a fyzikálním změnám účinkem přítomné mikroflóry. Jak chemické, tak i fyzikální změny působí na chuťové změny a prodlužují trvanlivost v porovnání s čerstvým mlékem. Bílkovinnou složkou sýra je kasein, který se sráží při sýření [4].

Sýry se vyrábějí úplným nebo částečným vysrážením bílkovin z ošetřeného mléka přidáním mlékářenských kultur, syřidla nebo jiných koagulačních činidel či kyseliny mléčné. Vzniká sýřenina, která se krájí, míchá a následně plní do forem, ve kterých prokysává a odkapává. Vedlejším produktem odkapu je syrovátka. Po dostatečném prokysání a odkapání se sýry vyklápí z forem, solí a skladují ve zracích sklepech. Po skončení zrání se sýry balí a chladí [2, 3].

Se syrovátkou se ze sýřeniny odstraňuje převážná část laktosy, ve vodě rozpustných vitaminů a minerálních látek, stejně tak ve vodě rozpustné syrovátkové bílkoviny. Činností mikroorganismů vzniká velký počet produktů látkové přeměny, které dodávají každému sýru jeho charakteristickou chuť [4].

2.1.1 Rozdělení sýrů

Sýry lze dělit podle řady kritérií:

Dělení podle typu mléka

Sýry se dělí na sýry vyrobené z kravského, kozího a ovčího mléka. Dále se rozlišují na sýry vyrobené z pasterizovaného nebo nepasterizovaného mléka [1].

Dělení podle typu srážení

- Sladké sýry – při jejich výrobě se mléko sráží účinkem syřidla.
- Sladkokyselé sýry
- Kyselé sýry (tvarohové sýry) – při jejich výrobě se mléko sráží zejména účinkem kyseliny mléčné, která se tvoří po dobu mléčného kvašení [6].

Dělení podle způsobu zrání

Způsob zrání závisí na druhu použité mikroflóry, přístupu kyslíku, mechanickém zpracování sýřeniny, množství přidané soli, teplotě a vlhkosti prostředí po dobu zrání.

- Měkké sýry – typické je aerobní zrání probíhající od povrchu směrem dovnitř sýra v důsledku činnosti vhodných plísní a bakterií.
- Tvrdé sýry – charakteristické je anaerobní zrání, zejména působením bakterií mléčného kvašení [6].

Dělení podle tvrdosti

Dělení podle tvrdosti vychází z poměru mezi sušinou a vodou. Čím méně vody sýr obsahuje, tím je tvrdší a sušší.

- Čerstvé sýry – jedná se o sýry s vysokým obsahem vody, které jsou určeny k rychlé konzumaci bez dalšího zrání. Např. čerstvý sýr, tvaroh aj.
- Měkké sýry – tyto sýry prošly krátkým obdobím zrání. Jsou smetanové a jejich konzistence je mazlavá. Do této skupiny patří např. Camembert, Brie aj.
- Polotvrdé sýry – sýry se vyznačují hutnou strukturou, ale i přesto je lze ještě snadno krájet. Při lehkém stlačení jsou pružné. Sem patří např. Gouda, Eidam aj.
- Tvrdé sýry – jde o robustní sýry s tvrdou sýřeninou, kterou nelze často nakrájet, aniž by došlo k rozdrobení sýra. Většina těchto sýrů se proto prodává také v nastrouhané nebo namleté formě. Do této skupiny patří např. Parmezán, Čedar, Ementál [1].

Dělení podle obsahu tuku, resp. tuku v sušině

- smetanové (50 až 55 %)
- plnotučné (45%)
- tučné (40%)
- třičtvrtětučné (30%)
- polotučné (20%)
- čtvrttučné (10%)
- nízkotučné (méně než 10%)

Čím více tuku sýry obsahují, tím jemnější je jejich chuť a konzistence sýrového těsta [6].

Dělení podle délky zrání

Pro zajímavost je zde uvedeno i dělení podle délky zrání, které se v našich podmínkách často nepoužívá. Zrání je proces, nezbytný pro většinu sýrů, během něhož se zlepšuje konzistence, chuť i vůně.

Délka doby zrání se označuje různými přívlastky:

- mladý sýr (jong kaas) doba zrání 4 týdny

- mladý uleželý sýr (jong belegen) doba zrání 6-8 týdnů
- uleželý sýr (belegen) doba zrání 8-12 týdnů
- pikantně uleželý sýr (pikant belegen) doba zrání 4-6 měsíců
- extra uleželý sýr (extra belegen) doba zrání 7-8 měsíců
- starý sýr (oud kaas) doba zrání 10-12 měsíců
- přestarlý sýr (overjarig kaas) doba zrání déle než 1 rok [1]

2.1.2 Technologie výroby eidamských sýrů

Vzhledem k tomu, že v experimentální části této práce jsou analyzovány sýry eidamského typu, je v této kapitole stručně popsán technologický postup jejich výroby. Podle výše uvedeného rozdělení patří sýry eidamského typu mezi sýry sladké, polotvrdé, tučné nebo plnotučné, s nízkodohřívanou sýřeninou.

Po příjmu mléka se případné mechanické nečistoty odstraní filtrací nebo centrifugací. Další operací je standardizace mléka na požadovanou tučnost. Následně se mléko pasteruje [7]. Pasterace zajišťuje zdravotní nezávadnost sýrů. Pro výrobu sýrů eidamského typu se používá šetrná krátkodobá pasterace při teplotě 75 °C po dobu 30 sekund [4, 7].

Po pasteraci se mléko příp. baktofuguje, což umožňuje účinně odstranit sporotvorné bakterie odstředivou silou [4, 8].

Následně se do mléka přidávají zákysové kultury, syřidlo a příp. aditiva. Zákysové kultury upravují kyselost mléka před sýřením, způsobují fermentaci laktosy a tvorbu kyseliny mléčné během koagulace a zpracování sraženiny. Jsou odpovědné za snížení pH, které má do jisté míry i konzervační účinek a brání rozvoji nežádoucích mikroorganismů, podílejí se na koagulaci a podporují odkapávání sýřeniny. Dále zákysové kultury uplatňují svou proteolytickou příp. lipolytickou aktivitu v průběhu zrání, čímž vytvářejí senzorické vlastnosti sýra. Do eidamských sýrů se přidává mezofilní (smetanová) kultura. Jedná se o mezofilní streptokoky mléčného kvašení *Lactococcus* spp. a *Leuconostoc* spp., především *Leuconostoc cremoris*, *Leuconostoc lactis* a *Lactococcus lactis* [4,7]. Přídavek chloridu vápenatého zlepšuje syřitelnost a zvyšuje pevnost vzniklého gelu. Přídavek dusičnanu draselného snižuje duření sýrů, které je způsobeno činností koliformních bakterií a bakterií máselného kvašení. Při výrobě sýrů eidamského typu se zpravidla používá barvení mléka barvivem *anato* (extrakt z keře *Bixa orellana*) [7].

Po přidavku všech výše zmíněných látek do mléka se přechází k základnímu procesu při výrobě sýrů a to ke koagulaci mléka. U eidamských sýrů se mléko koaguluje syřidlem (tzv. sladké srážení). Koagulace je založena na enzymovém štěpení specifické peptidové vazby mezi aminokyselinami fenylalaninem a methioninem v kaseinové frakci κ . Vzniká tak hydrofobní para- κ -kasein a hydrofilní glykomakropeptid. κ -Kasein je soustředěn na povrchu kaseinové micely a chrání ostatní kaseinové frakce, které jsou citlivé na srážení vápenatými ionty. Působení syřidla na κ -kasein se označuje jako primární (enzymová) fáze sýření.

V sekundární fázi dochází k tvorbě gelu, označuje se proto také jako fáze koagulační. Nezbytnou podmínkou pro vytvoření gelu je teplota vyšší než 6 °C a přítomnost vápenatých iontů. Terciární fáze působení syřidla na kasein již nesouvisí s koagulací, ale s proteolytickým působením syřidla v průběhu zrání a jedná se o děj nežádoucí [7]. Aktivní složkou syřidla je enzym chymozin. Klasické syřidlo je extrakt, který se získává z telecích žaludků, v dnešní době se však spíše používají náhradní syřidla většinou mikrobiálního původu [4, 8].

Po koagulaci se přechází k dalšímu procesu, kterým je zpracování sraženiny, to se zahajuje krájením gelu, který dosáhl požadované tuhosti. Krájení trvá přibližně 20 minut a vzniká při něm sýrové zrno o velikosti 3 až 15 mm. Po krájení se zrno míchá v uvolněné syrovátce. Po promíchání se provádí praní sýrového zrna, při kterém se snižuje obsah laktosy, současně se sýřenina dohřívá, protože k praní se používá teplá voda. Obvykle se nejprve odpustí cca 35 % syrovátky a přidá se 50 – 80 % jejího objemu vody teplé 50 – 60 °C. Přídavek takto teplé vody ohřívá zrno na teplotu 36 – 37 °C, což je požadovaná teplota pro dohřívání a dosoušení [7].

Dalším procesem výroby sýra je formování. Formování začíná oddělením syrovátky od sýrového zrna. Sýřenina shromážděná na dně sýrařského výrobku se po odčerpání téměř veškeré syrovátky plní do forem. Formování trvá několik hodin, během této doby nastává intenzivní rozvoj bakterií mléčného kvašení, čímž se laktosa rozkládá na kyselinu mléčnou. Při formování eidamského sýra syrovátka neodkape dostatečně, proto se sýry musí lisovat v sýrařských lisech. Aby se struktura na povrchu velmi nezpevněla, lisovací tlak se zvyšuje postupně. Lisování trvá 1 až 20 hodin podle typu lisovacího zařízení s použitím tlaku 50 až 400 kPa [4].

Po lisování se sýry solí. Solení nejen přispívá ke konečné požadované chuti sýra, ale také reguluje růst mikroorganismů. Sýry eidamského typu se ponořují do 18 – 20 % roztoku chloridu sodného na 48 hodin [4, 8]. Nasolené sýry se nechávají 1 až 2 dny oschnout, potom se balí do zracích fólií, které jsou nepropustné pro vodu a kyslík, ale propustné pro CO₂. Po zabalení se sýry nechávají zrát ve zracích sklepích cca 2 měsíce. Teplota se pohybuje mezi 8 – 10 °C. Během zrání dochází ke změnám, které jsou způsobeny mikrobiologickými a enzymovými vlivy. Jak již bylo zmíněno, díky těmto změnám získává sýr specifickou vůni, chuť, texturu i vzhled [4, 7].

2.1.3 Tavené sýry

Tavené sýry patří v České republice k oblíbeným výrobkům. Jedná se o nejmladší skupinu sýrů, které se začaly vyrábět na začátku minulého století, poprvé v roce 1911. Na základě vyhlášky Ministerstva zemědělství č.397/2016 Sb., ve znění pozdějších předpisů, je tavený sýr definován jako „sýr, který byl tepelně upraven za přídavku tavicích solí“. Spotřeba tavených sýrů v české republice na jednoho obyvatele za rok je více než 2,6 kg. Důvodem pro jejich výrobu bylo zejména prodloužení trvanlivosti přírodních sýrů. Dále obohacují trh o širokou škálu výrobků různých příchutí a fyzikálních vlastností, z nichž nejvíce oceňovanou je snadná roztíratelnost [9-11].

2.1.3.1 Rozdělení tavených sýrů

Tavené sýry se rozdělují podle použité suroviny a obsahu tuku v sušině (t. v s.). Na základě obsahu tuku rozlišujeme 4 skupiny tavených sýrů [12]:

- vysokotučné: 60 a více % t. v s.
- plnotučné: 45 – 55 % t. v s.
- polotučné: 30 – 45 % t. v s.
- nízkotučné: 30 a méně % t. v s.

Vyhláška Ministerstva zemědělství č.397/2016 Sb., rozeznává pouze vysokotučné tavené sýry (nejméně 60 % hm. t. v s.) a nízkotučné tavené sýry (nejvýše 30 % hm. t. v s.). Uvedená vyhláška u výrobků označených jako tavené sýry limituje obsah laktosy, sacharidů se sladícím účinkem a ostatních zdravotně nezávadných potravin (resp. surovin). Na základě zmíněné vyhlášky dále rozeznáváme tzv. tavené sýrové výrobky, které nemají omezení pro laktosu, cukry, ani ostatní zdravotně nezávadné potraviny (suroviny). Platí pouze, že 51 % hmotnosti sušiny musí pocházet ze sýra [9, 11].

Opět pro zajímavost je zde uvedeno další možné dělení tavených sýrů podle použitých surovin, v našich podmínkách nepříliš obvyklé:

- pasterované směsné sýry (pasteurized blended cheese)
- pasterované tavené sýry (pasteurized processed cheese)
- pasterované tavené sýrové potraviny (pasteurized processed cheese food)
- pasterované tavené sýrové pomazánky (pasteurized processed cheese spread)
- pasterované sýrové pomazánky (pasteurized cheese spread)

Uvedené dělení bylo převzato z Code of Federal Regulations (CRF) – vládní organizace USA [9].

2.1.4 Technologie výroby tavených sýrů

Základní surovinou pro výrobu tavených sýrů jsou přírodní sýry. Významnou výhodou výroby tavených sýrů je možné využití různých druhů sýrů, které by jinak nebylo možné uvést do oběhu. Jsou tak zhodnoceny sýry, které mají určité vady vzhledu, například sýry různě deformované nebo s trhlinami, vzniklými mechanicky. Sýry musí být požitelné, nevykazující smyslové změny, bez znaků hniloby, plísňe nebo napadení živočišnými škůdci [12].

Pro výrobu tavených sýrů jsou používány i přírodní sýry, které jsou vyráběny zcela pro tento účel. V České republice se pro výrobu tavených sýrů nejčastěji používají Eidamská cihla, Eidamský blok nebo Moravský blok o různém obsahu t. v s.. Další často používanou surovinou je tvaroh, jehož hlavním úkolem je zvýšení obsahu tukuprosté sušiny. Mezi další často používané suroviny patří máslo, čerstvé nebo zahuštěné mléko, syrovátka, voda, různé

druhy koření, masných výrobků a zeleniny. Nezbytnou podmínkou jejich výroby je přidavek tavicích solí [12, 13].

Tavené sýry se vyrábí kontinuálně nebo diskontinuálně. V České republice a zemích střední Evropy převládá diskontinuální způsob výroby v tavicích kotlích. Výrobní postup může být shrnut do následujících fází [10, 12]:

Příprava suroviny

Před zpracováním je nutné přírodní sýry očistit (omýt a oškrábat) a rozdělit podle typu konečného produktu.

Mechanické rozmělnění

K rozmělnění suroviny dochází před přidavkem tavicích solí a dalších přísad. Úkolem tohoto úseku je dokonalé rozemletí suroviny na řezače, popřípadě v mlecí válcové soupravě, v moderní výrobě používáme pro rozmělnění a homogenizaci tzv. kutry [12].

Tavení

Nejdůležitější fází výroby je vlastní proces tavení. K podstatným faktorům, ovlivňujícím kvalitu a vlastnosti konečného výrobku, patří teplota, rychlost míchání a celková doba tavení. Tavení probíhá v tzv. tavičkách, vybavených míchadlem, zařízením pro přímý i nepřímý ohřev a registrací teploty. Směs je v tavičkách zahřívána na teplotu 80 – 95 °C. Tavení probíhá za stálého míchání a mírného podtlaku až do vytvoření lesklé hmoty o homogenní konzistenci. Celková doba tavení je přibližně 10 – 15 min.

Proces tavení probíhá v úzkém rozmezí pH v závislosti na druhu suroviny a na finálním výrobku. Nejvhodnější pH je od 5,3 do 6,1, nejčastěji od 5,5 do 5,8.

Balení a expedice

Okamžitě po výrobě se sýr formuje a balí na automatických baličkách. Horká tavenina stéká do formovací a balicí části ze zásobní nádrže. Jako obalový materiál se nejčastěji používá hliníková fólie. K důležitým charakteristikám obalového materiálu patří nepropustnost pro světlo, vzduch, vodní páry, cizí pachy a vysoká odolnost vůči růstu mikroorganismů. V současné době se rozšiřuje balení do plastových kelímků a vaniček. Zabalené sýry jsou následně chlazeny, skladovány a expedovány [12].

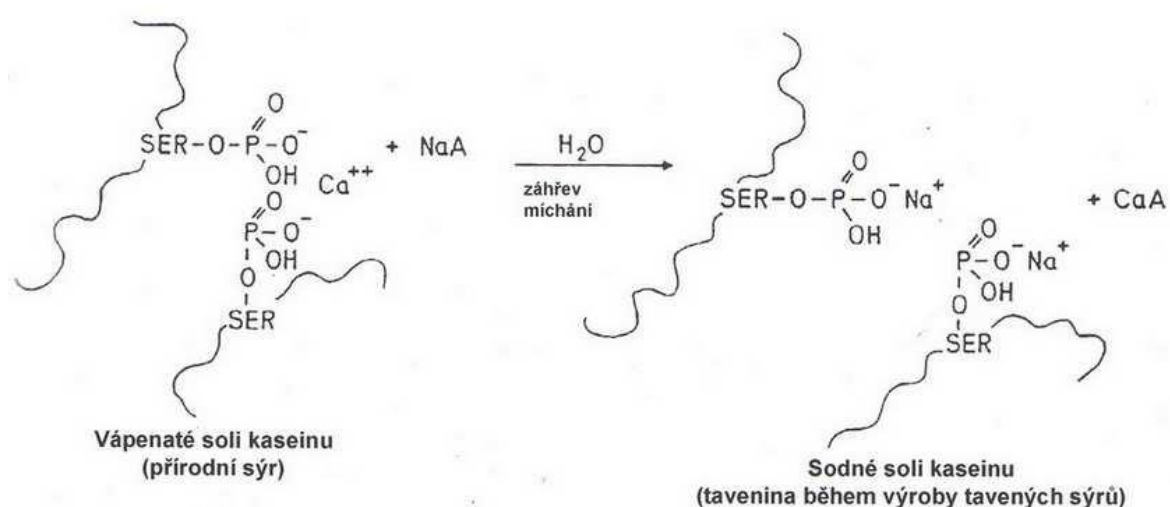
2.1.5 Tavicí soli

Jak již bylo zmíněno, tavicí nebo také emulgační soli jsou běžně a nezbytně používány při výrobě tavených sýrů. Slouží jako pufr, emulgační činidla, neutralizátory a stabilizátory. Zabraňují rozdělení složek směsi na tři fáze během zahřívání nad 85 °C, a to konkrétně na vysráženou bílkovinu na dně, vodní fázi uprostřed a volný tuk na povrchu. Tavicí soli rychle rozpouštějí bílkoviny, zamezují tak jejich srážení a zajišťují výměnu Ca^{2+} iontů za Na^+ nebo K^+ ionty. Podílejí se na rozpouštění Ca – parakaseinátu, oddělují vápník a dispergují proteiny. Oddělení vápníku probíhá iontovou výměnou Ca^{2+} iontů za Na^+ , při níž nerozpustné vápenaté

soli kaseinu jsou přeměněny na rozpustné sodné soli kaseinu. Při tomto procesu rovněž dojde k peptizaci a rozptýlení proteinů (Obr. 1) [14, 9, 12].

Emulgační soli asistují při vytvoření fyzikálně – chemické stability, působí na strukturní a funkční vlastnosti tavených sýrů. Dále se podílejí také na hydrataci proteinů, emulgaci tuků, čímž přispívají ke stabilitě emulze, kontrolují a stabilizují pH a ovlivňují tvorbu struktury po ochlazení. Působením tavicích solí také dojde k mírnému růstu pH a ke zvýšení negativního náboje přítomných proteinů a peptidů [9, 59, 15].

Používají se především tavicí soli na bázi fosforečnanů a citrátů, převážně sodné nebo draselné. Dávka tavicích solí ve finálním výrobku nesmí překročit 3 %. Výběr směsi tavicích solí závisí na požadovaných vlastnostech produktu, na podmínkách a způsobu tavení, chlazení a na druhu obalu. Pro provedení optimálního výběru pro daný výrobek je třeba znát vlastnosti jednotlivých tavicích solí a jejich účinky [5].



Obr. 1: Výměna Ca^{2+} iontů za Na^+ ionty při výrobě tavených sýrů [9]

Tavicí soli na bázi fosforečnanů ovlivňují zejména vlastnosti proteinů, a to prostřednictvím úpravy pH, iontové síly roztoku, odštěpením kationtů nebo mění vlastnosti proteinů (schopnost hydratace, tvorby gelu, bobtnání). Fosforečnany také upravují pH na optimální rozmezí 5,6 až 6,0, při výrazném odchýlení od této hodnoty dochází k zhoršení jakosti produktů. Fosforečné soli váží větší podíl vápníku, čímž zajišťují dobrou roztíratelnost. Polyfosfáty mají velkou rozpouštěcí schopnost a zušlechťují strukturu tavených sýrů. [5, 9, 12].

Tavicí soli na bázi citrátů jsou kyselé, používají se k získání lomivé konzistence. Nejčastěji se používají citráty trojsodné, protože monosodné a disodné citráty způsobují příliš velké okyselení směsi, což vede ke vzniku nestabilní emulze, která uvolňuje vodu. Používají se ve směsi s polyfosforečnany do blokových a plátkových analogů tavených sýrů [9, 12].

2.2 Lipidy obecně

Lipidy patří k významným složkám potravin a ve výživě člověka tvoří jednu z hlavních živin nezbytnou pro zdraví a vývoj organismu. Přesto nepředstavují jednotně definovanou skupinu sloučenin, protože hlavním kritériem zařazení do této skupiny bývá jejich hydrofobnost a nikoli jejich chemické vlastnosti [16].

Ze strukturního hlediska jsou lipidy estery mastných kyselin a alkoholů. Jejich společným znakem je hydrofobní charakter. Lipidy jsou tedy rozpustné v nepolárních rozpouštědlech (chloroform, benzen), ale nerozpustné v rozpouštědlech polárních (voda) [18].

Lipidy se obvykle definují jako přírodní sloučeniny obsahující esterově vázané mastné kyseliny o více než třech atomech uhlíku v molekule. Této definice užívají většinou pracovníci biologicky zaměřeni a hlavně lékaři. Jako složky aroma potravin se však běžně vyskytují ethylestery a vyšší estery mastných kyselin se 4 – 12 atomy uhlíku, které přesto k lipidům neřadíme. V potravinách se často nacházejí také sloučeniny mastných kyselin vzniklé průmyslovou činností nebo jinými lidskými aktivitami (např. estery cukrů a cukerných alkoholů s vyššími mastnými kyselinami), které nejsou přírodními látkami, ale přesto se v běžné praxi zařazují k lipidům [16].

Většinou se v praxi za lipidy považují také netěkavé lipofilní sloučeniny, které v přírodních i průmyslových produktech doprovázejí vlastní lipidy. Nazývají se proto doprovodné látky lipidů. Jejich chemická struktura je ale odlišná a často ani vázané mastné kyseliny neobsahují. Do této skupiny doprovodných látek lipidů náleží velké množství sloučenin, jako jsou různé terpenoidy (např. steroly) a karotenoidy. Doprovodnými látkami lipidů jsou dále lipofilní vitaminy a barviva, přírodní antioxidanty a jiné lipofilní sloučeniny [16].

2.3 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny (MK) jsou nejdůležitější a z hlediska výživy nejvýznamnější složkou lipidů. V přírodě bylo dosud nalezeno kolem 100 mastných kyselin. Podle názvosloví užívaného v organické chemii se jako mastné kyseliny označují karboxylové kyseliny s alifatickým uhlovodíkovým řetězcem, ale tato definice se úplně nekryje s mastnými kyselinami přítomnými v lipidech. Některé mastné kyseliny podle definice užívané organickými chemiky nejsou přítomny v přírodních lipidech, i když se mohou vyskytovat v průmyslových tukových výrobcích. Naopak některé mastné kyseliny vázané v lipidech jsou alicyklické nebo dokonce aromatické sloučeniny [16, 19, 20].

2.3.1 Nasycené mastné kyseliny

Nasycené mastné kyseliny (nazývané také satureované) (Saturated Fatty Acids - SFA) jsou běžnou složkou přírodních lipidů. Obsahují 4 až 60 atomů uhlíku a zpravidla rovný, nerozvětvený řetězec, nejčastěji o sudém počtu atomů uhlíku. Kyseliny s více než 10 až 12 atomy uhlíku se v buňkách ve volné formě většinou nevyskytují - z důvodu vysoké povrchové aktivity. V lipidech potravin jsou hlavními kyselinami většinou palmitová a stearová. Mastné

kyseliny se sudým počtem atomů uhlíku jsou v malém množství doprovázeny kyselinami s lichým počtem atomu uhlíku v molekule, zejména pentadekanovou a heptadekanovou [16, 19, 20].

2.3.2 Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou

Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou (tzv. monoenové)(Monounsaturated Fatty Acids - MUFA), se navzájem se liší podle počtu atomů uhlíku, polohy dvojně vazby a její prostorové konfigurace [16].

Obsah nenasycených MK v přírodních lipidových materiálech, například v tucích a v olejích, se pohybuje v širokém rozmezí, od více jak 90 % všech MK (např. řepkový olej) po méně než 10 % (např. kokosový tuk). V živočišných tucích se obsah nenasycených MK pohybuje v rozmezí mezi 50 – 70 %. Složení nenasycených MK v rostlinných tucích je daleko rozmanitější než v živočišných [16].

Nejběžnější nenasycenou MK je kyselina olejová, která se alespoň v malém množství vyskytuje prakticky ve všech živočišných a rostlinných lipidech. Z polyenových MK (Polyunsaturated Fatty Acids - PUFA) je nejběžnější linolová kyselina, která je stejně tak přítomná minimálně ve stopových množstvích ve všech tucích. V mléčném tuku se vyskytují i další nenasycené MK, např. palmitoolejová (asi 4 %) a vakcenová (1 – 5 %) [16].

Přírodní nenasycené MK mají většinou konfiguraci *cis*. Kyseliny s konfigurací *trans* se vyskytují hlavně v depotním tuku přežvýkavců, kam se dostávají z potravy přeměněné mikroorganismy v bachoru, kde vznikají při hydrogenaci kyseliny linolenové.

Tyto *trans*-nenasycené MK přecházejí částečně do mléka. Vyskytují se také v lidském depotním tuku, jelikož jsou lidmi přijímány ve stravě [16].

Kyseliny s konfigurací *trans* vznikají také průmyslovou katalytickou hydrogenací nenasycených MK, proto se vyskytují ve značném množství ve ztužených tucích

Také se tvoří při zahřátí tuků obsahujících polyenové MK na teploty nad 240 °C, např. při jejich dezodoraci. Celkový obsah *trans*-nenasycených MK v mléce a másle je 2 až 4 % ze všech MK [16].

2.3.3 Mastné kyseliny se dvěma a více dvojnými vazbami

Mastné kyseliny se dvěma dvojnými vazbami se nazývají dienové a ve výživě jsou velmi důležité. V přírodních lipidech se jich však vyskytuje v podstatném množství mnohem méně než monoenových kyselin. Počet přirozeně se vyskytujících mastných kyselin se třemi dvojnými vazbami je značně menší než by odpovídalo možnostem isomerie. Mastné kyseliny se čtyřmi, pěti a šesti dvojnými vazbami v molekule se vyskytují vzácně [16].

2.3.4 Mléčný tuk

Mléko průměrně obsahuje 3,7 až 4,1 % tuku, který se v něm nachází ve formě tukových kapének, které jsou obaleny membránou skládající se z komplexu fosfolipid – bílkovina. Mléčný tuk je významným zdrojem energie a vitaminů, podílí se na výstavbě buněčných membrán a výrobku uděluje senzorické vlastnosti. Obsahuje velké množství lipidů s malou molekulovou hmotností a mastné kyseliny s krátkými řetězci, díky kterým je dobře stravitelný [5, 12, 21].

V mléčném tuku jsou nejvíce zastoupeny triacylglyceroly, které tvoří asi 98 % z celkových lipidů. Mezi další složky, které jsou přítomné v mléčném tuku, patří monoacylglyceroly, diacylglyceroly, volné mastné kyseliny (VMK), fosfolipidy, steroly a vitaminy rozpustné v tucích.

Podle obsahu mastných kyselin v mléčném tuku je dělíme na majoritní a minoritní. Celkové množství je tvořeno ze 2/3 nasycenými MK a z 1/3 nenasycenými MK, především kyselinou linolovou, linoleovou a arachidonovou. Vlastnosti mléčného tuku jsou nejvíce ovlivněny kyselinou myristovou, palmitovou, stearovou a olejovou. Typický je i vysoký podíl nízkomolekulárních MK (máselná, kapronová, kaprylová), které se podílejí na vytvoření charakteristické vůně a chuti mléčného tuku [5, 22].

Dalšími doprovodnými látkami mléčného tuku jsou fosfolipidy, cerebrosidy a steroly. V membráně tukových kuliček se nachází fosfolipidová dvojvrstva, která napomáhá ke stabilizaci a emulgaci. Obsah fosfolipidů v mléčném tuku se udává v množství cca 1 %. Fosfolipidy jsou součástí všech buněk, zvláště nervových. Mléčné fosfolipidy obsahují hlavně lecitin, kefalin a sfingomyelin. Lecitin představuje největší podíl a je antagonistou cholesterolu. Napomáhá stabilizovat poměr mezi frakcemi LDL a HDL lipoproteinů, přispívá k léčení onemocnění jater a stimuluje nervový systém [5, 12, 22].

Dále mléčný tuk obsahuje steroly. Nejdůležitější je cholesterol, který se nachází v membránách tukových kapének. Zúčastňuje se metabolismu, je důležitý při tvorbě žlučových kyselin, steroidních hormonů a vitamínu D. V malém množství se v mléčném tuku vyskytuje ergosterol (prekurzor vitamínu D), tokoferoly (vitamín E) skvalen a karotenoidy. Karotenoidy jsou žlutá a červená barviva rozpustná v tucích, způsobují nažloutlou barvu mléčného tuku. Největší význam má β – karoten, precursor vitamínu A [5, 23].

V tabulce 4.1 je uvedeno srovnání obsahu tuku a spektra MK v syrovém mléce a vybraných typech sýrů [25].

Tabulka 4.1: Obsah tuku a MK ve 100 g jedlého podílu vybraných sýrů a mléka (pozn.: t. v s. = tuk v sušině; SFA = nasycené MK; MUFA = mononenasycené MK; PUFA = polynenasycené MK) [25]

Složení	Syrové mléko [g]	Sýr, čerstvý, nezrající, 60 % t. v s. [g]	Sýr, Eidam, 30 % t. v s. [g]	Sýr, Eidam, 50 %, t. v s. [g]	Sýr, tavený, nízkoeenergetický, Lipno, 30 % t. v s. [g]	Sýr, tavený, jemný, Maratónec, 65 %, t. v s. [g]
Celkový tuk	4,10	26,50	16,00	30,30	11,40	29,50
SFA	2,65	17,15	10,35	19,60	7,38	19,09
Máslová	0,14	0,90	0,54	1,03	0,39	1,00
Kapronová	0,09	0,58	0,35	0,67	0,25	0,65
Kaprylová	0,06	0,37	0,22	0,42	0,16	0,41
Kaprinová	0,13	0,82	0,50	0,94	0,35	0,91
Laurová	0,16	1,03	0,62	1,18	0,44	1,15
Myristová	0,45	2,92	1,76	3,33	1,25	3,25
Palmitová	1,21	7,84	4,74	8,97	3,37	8,73
Stearová	0,41	2,68	1,62	3,06	1,15	2,98
MUFA	1,11	7,16	4,32	8,18	3,08	7,97
Myristolejová	0,06	0,37	0,22	0,42	0,16	0,41
Palmitolejová	0,09	0,58	0,35	0,67	0,25	0,65
Olejová	0,05	5,88	0,19	6,73	0,14	6,55
Cis - 11 - eicosenová	0,05	0,32	0,19	0,36	0,14	0,35
PUFA	0,12	0,77	0,46	0,88	0,33	0,86
Linolová	0,09	0,56	0,34	0,64	0,24	0,62
Linolenová	0,03	0,21	0,13	0,24	0,09	0,24

2.4 Možnosti stanovení mastných kyselin v sýrech

Analytický postup pro stanovení mastných kyselin zahrnuje několik kroků: extrakce lipidů ze vzorku, hydrolýza, převedení MK na těkavější deriváty, jejich analytická separace, identifikace a kvantifikace [26, 27].

2.4.1 Vzorkování

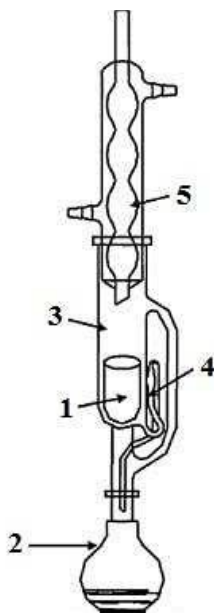
Odběr a příprava vzorku jsou nedílnou součástí analýzy. V případě špatného odběru jsou další úpravy zbytečné a případné výsledky nesprávné. To znamená, že vzorek by měl obsahovat všechny součásti ve stejném poměru (hmotnostním nebo objemovém), jako jsou ve vzorkovaném materiálu. Pokud není možná okamžitá extrakce lipidů ze vzorků, měly by být odebrané vzorky uchovávány v uzavřených nádobách při nízké teplotě, aby nedošlo ke kontaminaci vzorku. Další analýza by pak měla proběhnout co nejdříve [26, 27].

2.4.2 Extrakce

Jsou známy různé typy izolace lipidů. Vhodnost metody se volí podle matrice, ze které lipidy extrahujeme. Při extrakci je důležitá teplota, jelikož by při vyšších teplotách mohlo docházet k enzymatickému štěpení [6]. Extrakce rozpouštědlem je často používaná metoda i přesto, že má mnohé nevýhody, jako je náročnost na čas a použitý materiál, může při ní docházet ke ztrátě analytu, ale také vzniká velké množství organického odpadu. Z tohoto důvodu se již dnes aplikují různé modernější extrakční techniky. Lipidy obecně svou povahou patří mezi látky nepochybné, proto se k jejich extrakci používají nepochybné organická rozpouštědla, obvykle jejich směs [26, 28].

2.4.2.1 Extrakce podle Soxhleta

Jedná se o kontinuální extrakci, která se používá převážně k dělení organických látek. Aparatura je složena z destilační baňky, extraktoru a chladiče (Obr. 2). Do střední části přístroje se vkládá papírová extrakční patrona se vzorkem, kde se nepřetržitě extrahuje po dobu několika hodin. Tato klasická metoda se používá k izolaci tuků z potravinářských výrobků, k izolaci éterických olejů z květů apod. [29].



Obr. 2 Aparatura na extrakci dle Soxhleta [29]

Novější verze extrakce podle Soxhleta je tzv. Soxtec metoda. U této techniky byly podstatně upraveny negativní vlastnosti původní metody. Doba extrakce byla zkrácena na 2 – 4 hodiny a množství použitého rozpouštědla bylo sníženo na 50 – 100 ml. Soxtec metoda probíhá ve třech krocích. V prvním kroku je vzorek, umístěný v patroně, ponořen do vroucího rozpouštědla. Díky tomu dochází k rychlejší extrakci analytů oproti klasické Soxhletově metodě. Ve druhém kroku je vzorek po vytažení z rozpouštědla promýván kondenzujícím rozpouštědlem, jako u klasického postupu. Ve třetím kroku opět dojde k zakoncentrování analytu ve varné baňce oddestilováním rozpouštědla. Rozpouštědlo je poté možno znovu použít [30].

2.4.2.2 Extrakce podle Folche

Tato metoda je založena na extrakci vzorků směsí chloroformu a methanolu (2:1) a následné homogenizaci vzorku za studena. Homogenizace trvá minimálně 3 minuty, ale i déle v závislosti na konzistenci vzorku. Poté je suspenze zfiltrována nebo zcentrifugována, aby došlo k oddělení nerozpustných podílů vzorku. V závěrečné fázi opět dojde k oddestilování rozpouštědla na vakuové rotační odparce při teplotě nepřevyšující 40 °C [31]. Metoda se nejčastěji využívá pro stanovení tuku v matricích s větším množstvím vody a polárních lipidů (fosfolipidů, komplexních lipidů), jako např. maso a masné výrobky [28].

2.4.2.3 Extrakce podle Röseho a Gottlieba

Extrakce podle Röseho a Gottlieba (RG) je přesná rozhodčí metoda pro stanovení tuku v mléce a mléčných výrobcích. Metoda je vhodná zejména pro vzorky s vyšším obsahem vody, bílkovin a sacharidů, například podmaslí, syrovátka nebo odstředěné mléko [32]. Do speciálního extrakčního přístroje (popř. do dělicí nálevky) je navážen vzorek mléka, podstatou je extrakce směsí diethyletheru a petroletheru za přídavku amoniaku a ethanolu. V závěrečné fázi opět dojde k oddestilování rozpouštědla [31, 32].

2.4.2.4 Extrakce podle Schmid-Bondzynskiho-Ratzlaffa

Metoda podle Schmid-Bondzynskiho-Ratzlaffa (SRB) je obdobná metodě RG, je opět vhodná pro vzorky s vyšším obsahem vody a bílkovin, zejména pro maso a sýry. Na principu metody SRB je založena česká norma ČSN EN ISO 1735 (57 1007) pro stanovení obsahu tuku v sýrech a tavených sýrových výrobcích. Metoda SRB je pro sýry vhodnější než metoda RG, neboť mnoho typů sýrů a sýrových výrobků se v amoniaku nerozpouští snadno. Navíc zrající sýry obsahují VMK, které nejsou z amoniakálního roztoku extrahovány. Podstatou metody je mineralizace kyselinou chlorovodíkovou, přídavek ethanolu a následně extrakce diethyletherem a petroletherem. Po odstranění rozpouštědel (destilací nebo odpařením) se získá tuk [31, 33].

2.4.2.5 Extrakce pomocí mikrovln

Jedná se o mikrovlnnou extrakci (Microwave Assisted Extraction MAE) pomocí organických rozpouštědel. Princip je v tom, že mikrovlny, s frekvencí 2 450 MHz, ohřívají organická rozpouštědla, která jsou v kontaktu se vzorkem. Mohou je ohřívát buď v otevřeném systému, nebo v uzavřeném. V uzavřeném je pak extrakce rychlejší [34]. Velkou výhodou této metody je stanovení až čtyřiceti vzorků současně, nízká spotřeba rozpouštědla (30 – 50 ml) a v neposlední řadě nízká cena [35].

2.4.2.6 Extrakce na pevné fázi

Extrakce pevnou fází (Solid Phase Extraction – SPE) je další technikou přípravy vzorků, často používanou pro izolaci a frakcionaci lipidů. Tato metoda je poměrně nová (první aplikace byly publikovány během uplynulých dvou desetiletí [36]) a velmi rychle se uchytila např. jako náhrada tradiční extrakce na kapalných fázích, kapalinové nebo tenkovrstvé chromatografie [37]. Separace lipidů může být pojata jednoduše, jako oddělení polární a nepolární frakce, nebo komplexně, kdy dochází k separaci a izolaci triacylglycerolů, VMK, sterolů, sterylesterů, glykolipidů, atd. Rešerši publikovaných postupů pro separaci jednotlivých tříd lipidů pomocí SPE a jejich srovnání nedávno vypracovali Ruiz-Gutiérrez a Pérez-Camino. [38] Tato předúprava vzorku rovněž často slouží k odstranění interferencí matrice, případně k zakoncentrování analytu. [39]

2.4.2.7 Mikroextrakce na pevné fázi

Principem mikroextrakce na pevné fázi (SPME) je sorpce složky vzorku na stacionární fázi pokrývající křemenné vlákno, nacházející se uvnitř kovové jehly. Jehla s vláknem se vsune do vialky obsahující vzorek, vlákno se vysune. Po dosažení sorpční rovnováhy se vlákno zasune zpět, jehla se vytáhne ze vzorkovací matrice a vloží se do nástříkového prostoru chromatografu, kde se opět vysune. Mezi výhody této metody patří rychlost, citlivost a vysoká přesnost. V oblasti lipidů lze SPME použít především pro přímou extrakci těkavých VMK [40].

2.4.2.8 Superkritická fluidní extrakce

K extrakci pevného vzorku se využívá nadkritická kapalina- oxid uhličitý při teplotě 31 °C a tlaku 7 149 kPa. Nadkritický oxid uhličitý je nepolární, takže rozpouští nepolární, popřípadě málo polární sloučeniny. Tato metoda má mnoho výhod. Oxid uhličitý v kritickém bodě je netoxický, bezpečný, levný a jeho kritický bod je snadno dosažitelný. Změnami teplot a tlaků v extraktoru je možné měnit rozpouštěcí sílu. Oxid uhličitý také rychle proniká vzorkem a jímáný rozpuštěný analyt se kvůli lehkému odpařování oxidu uhličitého koncentruje [26, 41].

2.4.3 Esterifikace mastných kyselin

Pro stanovení mastných kyselin se nejčastěji používá plynová chromatografie, proto musí být MK převedené na těkavou formu. Mezi nejpoužívanější deriváty se řadí alkyl deriváty: metyl, etyl-, propyl-, isopropyl-, butyl- nebo isobutyl- sloučeniny, ze kterých v praxi bývají nejčastěji příslušné metylestery. Oproti vyšším esterům mají řadu výhod: nejvyšší těkavost ze všech esterů, velká reakční rychlost, vysoké výtěžky a v neposlední řadě široké spektrum zavedených metylačních postupů [42].

V případě požadavku na kvalitní rozlišení nenasycených MK musí být v rámci derivatizace neutralizovaná polární karboxylová skupina. Teprve potom je možná jejich separace podle

bodu varu, stupně nenasycenosti, pozice dvojných a trojných vazeb a dokonce také *cis* a *trans* izomerů [43].

Esterifikace se provádí několika možnými způsoby, které se dají použít pro širší okruh matric. Jako základní derivační reakce se používá bazicky nebo kysele katalyzovaná esterifikace [42].

2.4.3.1 Bazicky katalyzovaná esterifikace

Bazicky katalyzované reakce jsou rychlejší a probíhají za mírnějších podmínek než kysele katalyzované esterifikace. Dochází k esterifikaci pouze vázaných mastných kyselin. Jako katalyzátory se používají NaOH, KOH a/nebo methoxid sodný, resp. draselný v bezvodém methanolu [24].

2.4.3.2 Kysele katalyzovaná esterifikace

Kysele katalyzovaná esterifikace v přebytku bezvodého methanolu pomocí zahřívání se používá u VMK. Zahříváním dochází k urychlení esterifikace. Jako katalyzátory se používají 5 % bezvodá kyselina chlorovodíková v methanolu, 1 – 2 % roztok kyseliny sírové v methanolu nebo BF₃ v methanolu (12 – 14 % roztok). Vzorky lipidů jsou obvykle s činidlem zahřívány asi 2 hodiny pod zpětným chladičem. Esterifikovány jsou volné i vázané MK [24].

2.4.4 Stanovení mastných kyselin

2.4.4.1 Plynová chromatografie

V systému chromatografických metod zaujímá plynová chromatografie (GC) velice významné místo. V průběhu let se stala jednou z nejrozšířenějších metod analytické chemie. Nesmírný rozvoj a rozšíření plynové chromatografie je dán skutečností, že jde o metodu jednoduchou, citlivou, s vysokou separační účinností a rozsáhlými aplikačními možnostmi [45, 47]. GC je oficiální metoda pro stanovení MK uznávaná společností American Oil Chemist's Society. Pro stanovení MK v této práci byla použita plynová chromatografie s plameno-ionizační detekcí.

Princip plynové chromatografie

Principem této separační metody je rovnovážná distribuce složek mezi dvě fáze: plynnou – mobilní a kapalnou nebo tuhoun – stacionární. Složky jsou vždy separovány v plynné fázi. Pokud má být vzorek analyzován metodou plynové chromatografie (GC), musí být všechny složky vzorku vypařeny definovaným způsobem. V praxi to znamená, že GC je vhodná především pro organické látky s bodem varu asi do 400 °C. Podmínkou je, aby se látky při vypařování nerozkládaly. Teplota 400 °C představuje horní teplotní limit většiny běžných plynových chromatografů. Plynová chromatografie je vhodná i pro stanovení anorganických sloučenin, ale pouze těch, které splňují podmínku těkavosti. V některých případech lze analyzovat i látky netěkavé, když tyto látky převedeme na těkavější deriváty [44, 48, 49].

Použití plynové chromatografie

Z hlediska potravinářství je metoda vhodná zejména pro tuky a oleje. Naopak není vhodná pro mléčné tuky, protože obsahují kyseliny s krátkým řetězcem [51].

Při stanovení mastných kyselin se jako stacionární fáze používají polyestery. Z detektorů se používá zmíněný plamenově ionizační (FID) [50, 51].

Wijesundera a kol. [63] stanovovali VMK ve vzorcích sýrů čedar. Pro jejich sorpci ze vzorku bylo použito SPME vlákno pokryté polyakrylátem, ty byly následně stanoveny GC-FID.

Mannion a kol. [66] stanovovali VMK v mléčných výrobcích lišících se obsahem lipidů a stupněm lipolýzy. Použili 2 metody stanovení. První metoda spočívala v přímém nástřiku izolovaného extraktu VMK na kolonu a druhá metoda byla založena na esterifikaci VMK v injektoru na methylestery s použitím tetramethylamoniumhydroxidu jako katalyzátoru. Jako detektor byl použit FID.

Práce Ha a kol. [68] popisuje stanovení mastných kyselin v sýru parmezán a v mléčném tuku. VMK (<C12) byly extrahovány diethyletherem a hexanem, adsorbovány na neutrálním oxidu hlinitém, eluovány z aluminy kyselinou mravenčí v diisopropyletheru a odděleny od mastných kyselin s dlouhým řetězcem. Těkavé MK s rozvětveným řetězcem v celkových lipidových extraktech byly izolovány po alkalické hydrolýze. Byly připraveny butylestery izolovaných mastných kyselin, extrahovány do pentanu, promyty methanolem a vodou a analyzovány na kapilární koloně s polyethylenglykolem (Supelcowax10). Estery mastných kyselin byly identifikovány GC-MS a kvantifikovány GC za použití kyseliny 2-ethylnonanové jako interního standardu.

Cílem práce Gonzalez-Cordova a Vallejo-Cordova [74] bylo rychlé a přesné stanovení VMK s krátkým řetězcem (C4 – C12) v mléce pomocí SPME-GC.

2.4.4.2 Plynová chromatografie – hmotnostní spektrometrie

Nejjednodušší způsob identifikace mastných kyselin ve vzorku je srovnáním retenčních časů s komerčně dostupnými standardy. Lepší je použít spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií a potvrdit identifikaci srovnáním hmotnostních spekter [52, 53].

Hmotnostní spektrometrie (Mass Spectrometry – MS) je separační metoda převádějící vzorek na ionizovanou plynnou fázi a vzniklé ionty separuje dle hodnoty podílu jejich hmotnosti a náboje [41].

Hmotnostní spektrometr obsahuje tyto části: iontový zdroj, hmotnostní analyzátor, detektor, vakuový systém a vyhodnocovací zařízení [44].

Spojení mezi plynovým chromatografem a hmotnostním spektrometrem se označuje jako chromatografický vstup. Tím je dělič, umístěný na výstupu z kolony, který dělí proud nosného plynu do dvou cest. Jedna vstupuje do běžného detektoru (například plamenově ionizačního) a druhá přivádí nosný plyn a eluované složky do iontového zdroje [44].

Při analýze vzorků jsou tedy dosaženy dva druhy záznamů. Prvním je chromatogram, který informuje o počtu složek ve vzorku a druhým je hmotnostní spektrum jednotlivých píků, z kterých lze posuzovat kvalitu složek [44].

Použití plynové chromatografie – hmotnostní spektrometrie

Díky spojení plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC-MS) lze analyzovat složitější směsi organických látek. Pro vysokou citlivost detekce je vhodné použití této metody v oblasti stopové až ultrastopové analýzy [44, 54].

Tuomala a Kallio [64] stanovovali VMK v sýru ementálského typu přímým spojením superkritické fluidní extrakce s plynovým chromatografem. Pomocí superkritické fluidní extrakce oxidem uhličitým byla získána ze vzorků těkavá frakce s VMK a dalšími těkavými sloučeninami. Tato frakce pak byla analyzována na plynovém chromatografu s FID a MS detekcí.

Rychlou a jednoduchou metodu stanovení VMK v mléce popisují Amer a kol. [65]. Jedná se o metodu, kdy VMK byly převedeny ethylesterem kyseliny chloromravenčí na ethylestery a následně stanoveny na plynovém chromatografu s MS detekcí.

Hauß a Vetter [67] popsali stanovení individuálního složení MK a fosfolipidů v mléčných a jiných potravinách. Pro tyto účely byl vyvinut způsob oddělování lipidů pomocí SPE. Oddělené lipidové frakce byly transesterifikovány a jednotlivé MK byly kvantifikovány pomocí GC-MS.

Práche Pinho a kol. [72] popisuje metodu kvantifikace hlavních VMK z ovčího sýra. Pro extrakci, identifikaci a kvantifikaci butanové, hexanové, oktanové a dekanové kyseliny v sýrech byla použita metoda SPME v kombinaci s GC-MS.

Hauß a Vetter [73] zkoumali rozdíl v obsahu iso- a anteiso-mastných kyselin a složení neutrálních a polárních lipidů ve vzorcích ryb a sýrů. Neutrální lipidy (triacylglyceroly) byly odděleny od polárních lipidů (fosfolipidy) pomocí SPE. Oddělené lipidové frakce byly transformovány na methylestery mastných kyselin a koncentrace sedmi iso- a anteiso-mastných kyselin byly stanoveny pomocí GC-MS.

Gan a kol. [76] publikovali studii, ve které byla zkoumána komplexní směs těkavých sloučenin přítomných v sýrech čedar s různou zralostí. Vzorky byly analyzovány hmotnostní spektrometrií s chemickou ionizací (APCI-MS) a GC-MS.

2.4.4.3 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC – High Performance Liquid Chromatography) je technika chromatografie, kde se používá jako mobilní fáze kapalina. Na rozdíl od plynové chromatografie hraje mobilní fáze aktivní roli. Vysoké účinnosti se docílí použitím kolon naplněných velmi malými částicemi (cca 10 µm) a větším a konstantním průtokem mobilní fáze, zajištěným vysokotlakými čerpadly [26, 44].

Podle principu separace lze metodu dále dělit na kapalinovou rozdělovací chromatografii (LLC – Liquid – Liquid Chromatography), kapalinovou adsorpční chromatografii (LSC – Liquid – Solid Chromatography) a méně používanou gelově permeační chromatografii (GPC) a iontově výměnnou chromatografii (IEC – Ion – Exchange chromatography) [44].

LLC využívá rozdělování složek mezi kapalnou mobilní a kapalnou stacionární fází tak, že kapaliny musí být vzájemně nemísitelné. Jako náplň, obsahující chemicky vázanou stacionární fází, je používán silikagel. Kapalinová rozdělovací chromatografie se používá pro látky menších až středních relativních molekulových hmotností. Přítomnost vody zde není překážka [26, 41].

LSC využívá interakce mezi složkami vzorku a tuhou fází (adsorbentem) a prostředím mobilní fáze. Jako adsorbent se používá silikagel. Při volbě mobilní fáze se předpokládá, že na polárních absorbentech roste eluční účinnost od méně polárních k polárnějším rozpouštědlům [26].

Kapalinový chromatograf obsahuje tyto části: čerpadlo, dávkovací zařízení, kolonu, detektor a zapisovač a vyhodnocovací systém [55].

Pro stanovení MK lze užít více druhů detektorů. Nejrozšířenějším je fotometrický detektor, který je založen na měření absorpance látek vystupujících z chromatografických kolon. Detektor není vhodný pro složky neabsorbující UV záření. Mezi další používané detektory patří fluorimetrický nebo hmotnostní [44].

Použití vysokoúčinné kapalinové chromatografie

Obecně se tato metoda používá při stanovení iontů anorganických látek a při identifikaci molekulárních nebo biochemicky významných látek. Využití má tedy v potravinářském průmyslu, biochemii i v průmyslu zpracovávání dřeva a plastů [26].

Při stanovení MK se používá méně často než GC, na druhou stranu ale umožňuje dosažení vyšší citlivosti. Je závislá na délce řetězce a na stupni nenasycenosti MK. Záleží také na rozpouštědle, protože bylo prokázáno, že rychlejší je používání polárních rozpouštědel s obsahem hydroxylových skupin [56].

Wei a. Zeng [69] sepsali přehled zahrnující současné analytické metody a budoucí vývoj kvantitativního stanovení MK, zdůrazňující extrakci vzorku, derivatizaci a instrumentální analýzu pomocí GC-MS a HPLC ve spojení s tandemovou MS.

Cílem výzkumu Rodríguez – Castañeda a kol. [71] bylo ověřit metodu kvantifikace izomerů konjugované kyseliny linolové v tuku ovčího mléka. Izomery ve formě methylesterů byly odděleny vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (Ag + HPLC) stříbrných iontů a kvantifikace byla založena na spektrometrickém měření při 231 nm.

2.4.4.4 Chromatografie na tenké vrstvě

Hlavním prvkem chromatografie na tenké vrstvě (TLC – Thin Layer Chromatography) je hliníková destička pokrytá sorbentem- silikagelem. Před vlastním stanovením je vhodné dát

destičku aktivovat do sušárny. Následně se mikropipetou nanese vzorek na označené místo (start, asi 1 – 2 cm od okraje). Deska se pak vyvíjí v uzavřené komoře, kde je atmosféra sycena parami mobilní fáze. Nanesené vzorky nesmějí být ponořeny v kapalině. Vzlínající rozpouštědlo unáší složky vzorku různou rychlostí. Deska se nechává v komoře tak dlouho, dokud rozpouštědlo nedosáhne předem označeného cíle. Deska se pak vyjme, usuší, postříká se vhodným reagentem a zkoumají se složky. K nalezení fluoreskujících složek se používá UV lampa. Vyhodnocování probíhá formou měření vzdálenosti středu skvrny od startu a vzdálenost konce mobilní fáze od startu [44, 58].

Použití tenkovrstvé chromatografie

Pomocí TLC bylo zkoumané například bulharské máslo, kde byl zjišťován obsah *trans* monoenových MK v různých ročních obdobích. Průměrný obsah v létě byl stanoven na 4,04 % a v zimě na 5,43 %. Rozdíl byl přisouzen delší době krmení na pastvinách [57].

Práce Yan a kol. [70] popisuje jednoduchý, rychlý a účinný postup pro separaci a stanovení MK s rozvětveným řetězcem z přírodních produktů za použití TLC. Jako modelový vzorek byl použit kozí mléčný tuk. Vyvinutá metoda byla použita také pro koncentraci a stanovení MK s rozvětveným řetězcem v kravském mléčném tuku a ančovičkovém oleji.

Řezanka [75] popsal separaci methylesterů mastných kyselin (MEMK) pomocí dvourozměrné TLC. Část vrstvy impregnoval močovinou (první rozměr vývoje) a druhou část AgNO_3 (druhá dimenze).

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Chemikálie a laboratorní vybavení

3.1.1 Chemikálie

- Diethylether p.a., Lach-Ner, Neratovice
- Petrolether p.a., Lach-Ner, Neratovice
- Ethylalkohol 96 %, Lach-Ner, Neratovice
- Hexan p.a., Lach-Ner, Neratovice
- Hydroxid draselný p.a., Lach-Ner, Neratovice
- Isooktan p.a., Lach-Ner, Neratovice
- Kyselina chlorovodíková p.a., PENTA, Chrudim
- Směsný standard methylesterů mastných kyselin - FAME mix 37, SIGMA-ALDRICH, Německo
- Destilovaná voda

3.1.2 Plyny

- Dusík 5.0 SIAD v tlakové lahvi s redukčním ventilem a kovovou membránou
- Vodík 5.5 SIAD v tlakové lahvi s redukčním ventilem
- Vzduch 5.0 SIAD v tlakové lahvi s redukčním ventilem pro kyslík

3.1.3 Přístroje

- Plynový chromatograf TRACE GC (ThermoQuest S.p.A., Itálie) s plamenově ionizačním detektorem, split/splitless injektorem a kapilární kolonou DB-23 s výstupem na PC
- Počítač PC, Intel Pentium Procesor
- Analytické digitální váhy HELAGO, GR-202-EC, Itálie
- Vakuová rotační odparka
- Chladnička s mrazničkou AMICA, model AD 250

3.1.4 Pomůcky

- Mikropipety BIOHIT 1000, 200, 100 µl
- Vialky s kaučuk-teflonovými septy a šroubovacími uzávěry, plastové Eppendorfovy mikrozkuhavky

- Běžné laboratorní sklo

3.2 Analyzované vzorky

V experimentální části diplomové práce byly analyzovány modelové vzorky přírodních sýrů eidamského typu (55 % sušiny, 45 % t. v s.) a tavených sýrů (40 % sušiny, 50 % t. v s.), které byly vyrobeny standardním technologickým postupem během února 2015 na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně.

Stručný popis procesu výroby: pro výrobu sýrů bylo použito odstředěné syrové mléko (obsah tuku přibližně 0,1 %), které bylo standardizováno na tučnost 3,5 %. Standardizované mléko bylo podrobeno diskontinuální pasteraci přímo ve výrobníku sýrů při zvolených teplotních režimech (viz níže).

Standardizované mléko bylo následně vytemperováno na sýřicí teplotu 32 ± 1 °C, inokulováno sýrařskou kulturou (mezofilní koncentrovaná lyofilizovaná kultura Christian Hansen), po přidavku nasyceného roztoku CaCl_2 se mléko dokonale promíchalo a kultura se nechala 20 minut reaktivovat za současného míchání. Poté bylo do mléka přidáno syřidlo, směs se krátce intenzivně promíchala a byla ponechána v klidu po dobu 30 minut. Po 30 minutách srážení se sýřenina prokrojila pomocí sýrařské harfy jak podélně, tak i příčně. Pokrájená sýřenina se ponechala 10 minut v klidu, následně se velmi opatrně ručně míchala po dobu 20 minut, poté se za stálého míchání přes síto odebrala část syrovátky (do 30 % původního objemu mléka) a k sýrařskému zrnu se velmi pomalu přidávala voda (do 70 % objemu odebrané syrovátky) o teplotě 60 °C tak, aby teplota systému vzrostla na 37 °C (dohřívání sýrařského zrna). Dohřívání syrového zrna bylo pozvolné a trvalo několik minut, dosoušení probíhalo za stálého ručního míchání 30 minut. Další krok zahrnoval formování a lisování sýřeniny. Sýřenina se slila do předem připravených forem vyložených sýrařskými plachetkami. Ve formách se nechala předlisovat 20 minut, přičemž po 10 minutách byla sýřenina otočena k rovnoměrnému odtoku syrovátky. Předlisovaná sýřenina se nakrájela na 12 rovnoměrně velkých kusů, které se vložily do lisovacích forem opět vyložených plachetkou. Sýřenina se lisovala pomocí lisovacích závaží podle zvoleného režimu. Sýry se ihned po vylisování solily v solném roztoku o koncentraci 20 % (w/v) po dobu 5 hodin. Vylisované sýry se na závěr ošetřily antimykotickou suspenzí (přípravek Delvocid), následně se nechaly oschnout 1 hodinu a balily se do obalového materiálu (smrštitelná fólie). Hotové sýry se nechaly zrát při teplotě 10 °C po dobu 2 měsíců.

Celkem byly vyrobeny tři série vzorků přírodního sýru, které se lišily teplotou a dobou pasteračního záhřevu. První vzorky byly odebrány 48 hodin po zabalení (označené N-nezralé sýry), okamžitě zmrazeny (-18 °C) a uchovávány až do doby analýzy (max. jeden měsíc). Další vzorky byly proměřeny po 2 měsících zrání při teplotě 10 °C (označené Z-zralé sýry).

Označení vzorků:

vzorek N1, Z1 - pasterační záhřev 65 °C/30 min

vzorek N2, Z2 - pasterační záhřev 80 °C/30 s

vzorek N3, Z3 - pasterační záhřev 74 °C/30 s

Ze sýrů byly následně vyrobeny tavené sýry (označené T), přídavek tavicích solí (2,5 %), tavicí teplota 85 °C. Tyto byly po 3 měsících skladování při teplotě 4 °C také analyzovány. Celkem byly vyrobeny opět tři série vzorků tavených sýrů, které se lišily dobou tavení.

Označení vzorků:

vzorek T1 – tavicí záhřev 85 °C/1 min

vzorek T2 – tavicí záhřev 85 °C/5 min

vzorek T3 - tavicí záhřev 85 °C/10 min

3.3 Pracovní postupy

3.3.1 Příprava vzorků k analýze

Před analýzou byly vzorky ponechány přes noc rozmrazit při laboratorní teplotě, z různých míst vzorku byla odebrána reprezentativní část, nasekána nožem na drobné kousky a promíchána. Z tohoto vzorku byl navážen 1 g s přesností na 0,0001 g a kvantitativně převeden do zkumavky k extrakci.

3.3.2 Extrakce lipidů podle ČSN EN ISO 1735

K připravenému vzorku bylo přidáno 5 ml HCl. Směs se nechala zahřívát ve vodní lázni při 80 °C až do úplného rozpuštění sýru (cca 15 min), následně byla směs ochlazena tekoucí vodou. Poté bylo přidáno 5 ml ethanolu a směs byla kvantitativně převedena do dělicí nálevky. Ke směsi bylo postupně přidáno 8,4 ml diethyletheru a 8,4 ml petroletheru a po každém přídavku byla směs mírně promíchána a třepána po dobu 1 min. Směs se nechala 30 min odstát pro oddělení fází (při laboratorní teplotě cca 22 °C) – první extrakce. Po této době byla horní fáze přesunuta do předem zvážené baňky. Následně byla provedena druhá a třetí extrakce, vždy s přídavkem 4,2 ml diethyletheru a 4,2 ml petroletheru a odstáním směsi po dobu 30 min do oddělení fází. Všechny tři extrakty byly spojeny a rozpouštědlo bylo odpařeno na vakuové rotační odparce při teplotě do 40 °C. Množství vyextrahovaného tuku bylo zjištěno gravimetricky – zvážením na analytických vahách s přesností na 0,0001 g a odečtením váhy čisté extrakční baňky.

3.3.3 Příprava methylesterů mastných kyselin - Metoda podle ČSN EN ISO 5509

Vyextrahovaný tuk byl pomocí 1 ml hexanu kvantitativně převeden do plastových Eppendorfových mikrozku mávek. Z nich byl poté automatickou pipetou odebrán potřebný objem (viz rovnice 1) do vialky s pryžovým uzávěrem. Obsah vialky byl za přídavku 5 ml isooktanu a 0,5 ml methanolického roztoku KOH ($c = 2 \text{ mol.l}^{-1}$) dokonale rozpuštěn. Vialka

byla po dobu 8 minut dobře protřepávána a poté se nechala 6 min stát až do oddělení dvou vrstev. Po této době byl z horní isooktanové vrstvy odebrán 1 ml ke GC-FID analýze.

Výpočet 1: objem extraktu, potřebný k odebrání, pro získání cílové koncentrace tuku 10 mg.ml^{-1}

$$c_1 \cdot V_1 = c_2 \cdot V_2 \quad (1)$$

Kde:

c_1 koncentrace vyextrahovaného tuku [mg.ml^{-1}]

V_1 objem extraktu potřebný k odebrání [ml]

c_2 cílová koncentrace [tj. 10 mg.ml^{-1}]

V_2 objem isooktanu [5 ml]

3.4 Stanovení methylesterů mastných kyselin metodou GC-FID

- Plynový chromatograf TRACE GC (ThermoQuest S.p.A., Itálie)
- Plamenově ionizační detektor (FID), 250°C , průtok vodíku 35 ml.min^{-1} , průtok vzduchu 350 ml.min^{-1} , make-up dusíku 30 ml.min^{-1}
- Dávkování: autosampler bez děliče toku ($1 \mu\text{l}$), ventil uzavřen po dobu 5 min
- Teplota injektoru: 250°C
- Nosný plyn: dusík s průtokem $0,5 \text{ ml.min}^{-1}$
- Kapilární kolona: DB-23 o rozměrech $60 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm} \times 0,25 \mu\text{m}$
- Teplotním program: 60°C , 10 min, vzestupný gradient 12°C/min do 200°C s výdrží 10 min, vzestupný gradient 5°C/min do 220°C s výdrží 15 min, vzestupný gradient 10°C/min do 240°C s výdrží 7 min
- Celková doba analýzy: 60 minut

3.5 Identifikace a kvantifikace mastných kyselin ve vzorcích

Mastné kyseliny byly stanoveny po převedení na MEMK (viz kap. 3.3.3). Identifikace jednotlivých MEMK v reálných vzorcích byla provedena na základě srovnání retenčních časů identických standardů. Kvantifikace vybraných mastných kyselin byla provedena výpočtem jejich koncentrace (c_{MEMK}) z ploch pík MEMK ve vzorku (P_{MEMK}) a známé koncentrace (c_s) a ploch pík (P_s) standardů. Potřebné parametry standardů byly převzaty z práce Pruknerové [60].

Výpočet:

$$c_{\text{MEMK}} = \frac{c_s \cdot P}{P_s} [\text{mg.ml}^{-1}] \quad (2)$$

Vypočtené množství methylesterů mastných kyselin (c_{FAME}) bylo přepočteno na obsah MK (dle rovnice 3). Přepočet MEMK na MK:

$$c_{MK} = \frac{c_{MEMK} \cdot Mr_{MK}}{Mr_{MEMK}} \quad (3)$$

Kde:

c_{MK} koncentrace MK ve vzorku [$\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$]

c_{MEMK} koncentrace MEMK ve vzorku [$\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$]

Mr_{MK} molární hmotnost MK [$\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$]

Mr_{MEMK} molární hmotnost MEMK [$\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$]

Přepočet obsahu MK na 1 g tuku: $c_{MK} \cdot 100$ [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku] (4)

Přepočet obsahu MK na 1 g sýra: $c_{MK} \cdot 100 \cdot m$ [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra] (5)

kde:

m hmotnost vyextrahovaného tuku [g]

3.6 Statistické zpracování výsledků

Data byla zpracována a vyhodnocena pomocí programu MS Excel 2007. Každý vzorek byl změřen dvakrát, výsledky jsou vyjádřeny v $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku a/nebo v $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra, ve tvaru aritmetický průměr \pm směrodatná odchylka ($n=2$).

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato práce je součástí rozsáhlé studie, která se bude zabývat komplexní charakterizací lipidů ve vzorcích přírodních sýrů eidamského typu a z nich vyrobených sýrů tavených. Práce bude spočívat ve stanovení volných a vázaných mastných kyselin a některých dalších parametrů souvisejících s obsahem a složením lipidů ve vzorcích. Modelové vzorky budou vyráběny ve spolupráci s Ústavem technologie potravin na technologické fakultě Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně. Po celou dobu výroby, od syrového mléka jako základní suroviny až po konečný výrobek, tavený sýr, budou v pravidelných intervalech odebírány vzorky, které budou podrobeny analýzám. Cílem je sledovat změny vybraných parametrů v průběhu technologického procesu výroby.

Tato diplomová práce navazuje na bakalářskou práci autorky a je zaměřena na stanovení celkového obsahu mastných kyselin. Pro izolaci lipidů z matrice sýra byla použita extrakce podle ČSN EN ISO 1735; jde o klasický způsob za použití organických rozpouštědel. Pro esterifikaci mastných kyselin metoda podle ČSN EN ISO 5509 s použitím methanolového roztoku hydroxidu draselného. Mastné kyseliny byly identifikovány a kvantifikovány pomocí standardů plynovou chromatografií s FID detekcí. Přesný postup a podmínky stanovení byly převzaty z diplomové práce Pruknerové [60] a jsou uvedeny v kap. 3.3.

V rámci této práce byly proměřeny modelové vzorky sýrů eidamského typu a vzorky tavených sýrů, které z nich byly vyrobeny. Sýry byly vyrobeny standardním technologickým postupem (viz kapitola 3.2). Přírodní sýry byly analyzovány okamžitě po výrobě, přesněji řečeno po uplynutí 48 hodin od jejich výroby a po 2 měsících zrání. Tavené sýry byly analyzovány do 48 hodin po výrobě. Jednotlivé série vzorků (výroby) se od sebe liší použitým pasteračním záhřevem (teplota vs. doba), tavené sýry se liší použitým tavicím záhřevem (teplota vs. doba). Hlavním cílem tedy bylo posoudit vliv pasteračního resp. tavicího záhřevu na obsah jednotlivých mastných kyselin. V neposlední řadě budou diskutovány změny obsahu stanovených mastných kyselin v průběhu výroby přírodních/tavených sýrů.

4.1 Identifikace a kvantifikace mastných kyselin ve vzorcích

Identifikace mastných kyselin ve vzorcích byla provedena na základě srovnání retenčních časů MEMK ve vzorcích s retenčními časy identických standardů, kvantifikace srovnáním ploch píků se standardy o známé koncentraci. Hlavní charakteristiky standardů jsou uvedeny v Tabulce 4.2.

Tabulka 4.2: Přehled standardů použitých k identifikaci a kvantifikaci mastných kyselin

Mastná kyselina	symbol	Tr [min]	c [mg.ml ⁻¹]	plocha píku [mV · s]
máselná	C4:0	14,56	0,04	1468312
kapronová	C6:0	18,26	0,04	2400501
kaprylová	C8:0	21,62	0,04	3557380
kaprinová	C10:0	24,11	0,04	3061648

Tabulka 4.2 pokračování: Přehled standardů použitých k identifikaci a kvantifikaci mastných kyselin

Mastná kyselina	symbol	Tr [min]	c [mg.ml ⁻¹]	plocha píku [mV · s]
undekanová	C11:0	25,20	0,02	1350435
laurová	C12:0	26,36	0,04	2315169
tridekanová	C13:0	27,57	0,02	999383
myristová	C14:0	28,99	0,04	1666563
myristolejová	C14:1 n9c	29,70	0,02	830174
pentadekanová	C15:0	30,63	0,02	722222
cis-10-pentadecenová	C15:1	31,55	0,02	713495
palmitová	C16:0	32,66	0,06	2158637
palmitolejová	C16:1 n9c	33,37	0,02	668278
heptadekanová	C17:0	34,66	0,02	573988
cis-10-heptadecenová	C17:1	35,44	0,02	614572
stearová	C18:0	36,82	0,04	1258918
elaidová	C18:1 n9t	37,28	0,02	648736
olejová	C18:1 n9c	37,58	0,04	1360754
linolelaidová	C18:2 n6t	38,10	0,02	520610
linolová	C18:2 n6c	38,90	0,02	607511
gama-linolenová	C18:3 n6	39,74	0,02	499286
linolenová	C18:3 n3	40,65	0,02	489830
arachová	C20:0	42,31	0,04	1067799
cis-11-eicosenová	C20:1	43,21	0,02	518246
cis-11,14-eicosadienová	C20:2	45,15	0,02	480540
heneicosanová	C21:0	45,77	0,02	498451
cis-8,11,14-eicosatrienová	C20:3 n6	46,45	0,02	438082
arachidonová	C20:4 n6	47,29	0,02	420071
cis-11,14,17-eicosatrienová	C20:3 n3	47,82	0,02	466524
cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenová	C20:5 n3	50,08	0,02	956606
behenová	C22:0	50,27	0,04	367333
eruková	C22:1 n9	51,36	0,02	474533
cis-13,16-docosadienová	C22:2	53,18	0,02	450170
tricosanová	C23:0	53,51	0,02	492037
lignocerová	C24:0	57,18	0,04	991745
cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenová	C22:6 n3	58,31	0,02	452122
nervonová	C24:1	58,51	0,02	277490

4.2 Obsah mastných kyselin ve vzorcích sýrů

Celkem byly vyrobeny tři série vzorků sýrů eidamského typu (označeny 1, 2 a 3), přičemž byly aplikovány tři různé kombinace teploty a doby záhřevu (viz kap. 3.2). Sýry byly analyzovány okamžitě po výrobě, resp. 48 hodin po zabalení (vzorky označeny jako „nezralé sýry-N“), a po 2 měsících zrání (vzorky označeny jako „zralé sýry-Z“).

Hlavním cílem této práce bylo posouzení vlivu použitého pasteračního záhřevu mléka na obsah a složení MK v sýrech; resp. na obsah jednotlivých MK a poměr SFA, MUFA a PUFA.

Aby bylo možné porovnávat různé použité kombinace teplota/doba pasterace, byly tyto přepočítány na tzv. pasterační účinek (P_0). Nejvyššího pasteračního účinku (nejvyššího tepelného namáhání) bylo dosaženo kombinací 65 °C, 30 min (výroba 1). U výroby 2 a 3 rozdíl není tak markantní, nejmenší pasterační účinek poskytuje kombinace 74 °C, 30 s (výroba 3) [77].

Celkem bylo ve vzorcích zralých i nezralých sýrů identifikováno 23 mastných kyselin. V tabulkách 4.3, 4.4, 4.5 a 4.6 je uveden přehled a obsah mastných kyselin identifikovaných v jednotlivých vzorcích (pro lepší přehlednost jsou uvedeny hodnoty jednotlivých kyselin v $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku i po přepočtu na $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra).

Mléčný tuk je charakteristický přítomností především mastných kyselin s krátkými až středně dlouhými řetězci (4 – 16 C). Mezi nejdůležitější MK mléčného tuku patří SFA (máselná, kapronová, kaprylová, kaprinová, laurová, myristová, palmitová, stearová), které tvoří cca 60 – 70 % všech MK, v menší míře jsou zde zastoupeny MUFA (26 – 42 %), z nichž nejvýznamnější je kyselina olejová. PUFA (linolová, linolenová, arachidonová) tvoří velmi nízký podíl (2 – 6 %) [59].

Tabulka 4.3: Obsah mastných kyselin identifikovaných v nezralých sýrech ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku)

Mastná kyselina	c [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku]		
	vzorek N1	vzorek N2	vzorek N3
máselná	$1,18 \pm 0,35$	-	$1,11 \pm 0,00$
kapronová	$10,73 \pm 0,58$	$15,56 \pm 0,45$	$14,10 \pm 1,50$
kaprylová	$5,38 \pm 0,05$	$8,32 \pm 0,08$	$8,35 \pm 0,25$
kaprinová	$18,04 \pm 0,30$	$20,07 \pm 0,18$	$20,80 \pm 0,91$
undekanová	$0,87 \pm 0,03$	$0,88 \pm 0,00$	$0,94 \pm 0,07$
laurová	$26,22 \pm 0,49$	$25,91 \pm 0,94$	$27,57 \pm 1,60$
tridekanová	$1,43 \pm 0,02$	$1,37 \pm 0,07$	$1,47 \pm 0,11$
myristová	$102,16 \pm 0,25$	$90,92 \pm 6,39$	$96,43 \pm 5,31$
myristoolejová	$11,42 \pm 0,11$	$9,84 \pm 1,33$	$10,41 \pm 1,23$
pentadekanová	$16,18 \pm 0,40$	$14,23 \pm 1,11$	$14,96 \pm 0,62$
cis-10-pentadecenová	$2,53 \pm 0,12$	$2,07 \pm 0,19$	$1,14 \pm 0,93$

Tabulka 4.3 pokračování: Obsah mastných kyselin identifikovaných v nezralých sýrech ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku)

	c [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku]		
Mastná kyselina	vzorek N1	vzorek N2	vzorek N3
palmitová	337,92 ± 12,45	280,43 ± 27,05	258,36 ± 27,97
palmitoolejová	1,71 ± 0,01	1,53 ± 0,03	19,70 ± 0,44
heptadekanová	4,54 ± 3,99	7,91 ± 0,82	8,61 ± 0,55
cis-10-heptadecenová	4,22 ± 0,16	3,72 ± 0,38	3,92 ± 0,19
stearová	84,21 ± 7,01	72,83 ± 5,71	78,21 ± 5,54
elaidová	-	-	81,23 ± 0,00
olejová	229,23 ± 7,37	179,22 ± 27,15	222,30 ± 32,63
linolelaidová	4,30 ± 0,20	2,43 ± 1,45	5,36 ± 4,28
linolová	53,45 ± 26,82	27,50 ± 10,31	80,49 ± 36,36
gama-linolenová	40,12 ± 0,00	0,35 ± 0,09	0,30 ± 0,08
linolenová	1,84 ± 0,35	4,83 ± 0,93	5,52 ± 0,36
arachová	2,29 ± 1,45	1,18 ± 0,26	1,06 ± 0,59
cis-11-eicosenová	0,27 ± 0,02	0,90 ± 0,17	6,61 ± 5,62
cis-11,14-eicosadienová	1,55 ± 0,37	-	-
heneicosanová	-	-	0,21 ± 0,00
cis-8,11,14-eicosatrienová	1,17 ± 0,00	1,02 ± 0,11	1,06 ± 0,00
arachidonová	1,85 ± 0,07	1,58 ± 0,16	1,62 ± 0,00
cis-11,14,17-eicosatrienová	-	-	1,43 ± 0,00
cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenová	0,50 ± 0,00	0,27 ± 0,00	0,29 ± 0,00
behenová	4,71 ± 0,00	0,78 ± 0,00	0,92 ± 0,00
eruková	0,46 ± 0,00	-	2,19 ± 0,00
trikosanová	0,25 ± 0,03	-	-
lignocerová	0,59 ± 0,27	0,37 ± 0,00	0,61 ± 0,28
cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenová	-	-	0,24 ± 0,00
nervonová	2,47 ± 0,00	-	-

Tabulka 4.4: Obsah mastných kyselin identifikovaných v nezralých sýrech ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra)

	c [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra]		
Mastná kyselina	vzorek N1	vzorek N2	vzorek N3
máselná	0,40 ± 0,10	-	0,28 ± 0,00
kapronová	3,66 ± 0,06	3,31 ± 0,07	3,62 ± 0,40
kaprylová	1,84 ± 0,09	1,77 ± 0,00	2,15 ± 0,07
kaprinová	6,17 ± 0,33	4,27 ± 0,07	5,34 ± 0,26
undekanová	0,30 ± 0,00	0,19 ± 0,00	0,24 ± 0,02

Tabulka 4.4 pokračování: Obsah mastných kyselin identifikovaných v nezralých sýrech ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra)

Mastná kyselina	c [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra]		
	vzorek N1	vzorek N2	vzorek N3
laurová	$8,97 \pm 0,50$	$5,51 \pm 0,24$	$7,08 \pm 0,45$
tridekanová	$0,49 \pm 0,02$	$0,29 \pm 0,02$	$0,38 \pm 0,03$
myristová	$34,91 \pm 1,20$	$19,36 \pm 1,49$	$24,77 \pm 1,49$
myristoolejová	$3,90 \pm 0,11$	$2,10 \pm 0,30$	$2,68 \pm 0,33$
pentadekanová	$5,52 \pm 0,07$	$3,03 \pm 0,26$	$3,84 \pm 0,18$
cis-10-pentadecenová	$0,86 \pm 0,01$	$0,44 \pm 0,04$	$0,29 \pm 0,24$
palmitová	$115,33 \pm 0,01$	$59,71 \pm 6,15$	$66,31 \pm 6,85$
palmitoolejová	$0,59 \pm 0,02$	$0,33 \pm 0,01$	$5,06 \pm 0,14$
heptadekanová	$1,60 \pm 1,42$	$1,68 \pm 0,19$	$2,21 \pm 0,15$
cis-10-heptadecenová	$1,44 \pm 0,00$	$0,79 \pm 0,09$	$1,01 \pm 0,05$
stearová	$28,69 \pm 1,34$	$15,51 \pm 1,32$	$20,09 \pm 1,52$
elaidová	-	-	$20,97 \pm 0,00$
olejová	$78,43 \pm 5,40$	$38,18 \pm 6,03$	$57,13 \pm 8,67$
linolelaidová	$1,47 \pm 0,01$	$0,52 \pm 0,31$	$1,38 \pm 1,11$
linolová	$18,60 \pm 9,84$	$5,87 \pm 2,23$	$20,72 \pm 9,44$
gama-linolenová	$0,11 \pm 0,00$	$0,07 \pm 0,02$	$0,08 \pm 0,02$
linolenová	$0,63 \pm 0,14$	$1,03 \pm 0,21$	$1,42 \pm 0,10$
arachová	$0,80 \pm 0,52$	$0,25 \pm 0,06$	$0,27 \pm 0,15$
cis-11-eicosenová	$0,09 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,04$	$1,69 \pm 1,43$
cis-11,14-eicosadienová	$0,52 \pm 0,11$	-	-
heneicosanová	-	-	$0,05 \pm 0,00$
cis-8,11,14-eicosatrienová	$0,42 \pm 0,00$	$0,22 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,00$
arachidonová	$0,63 \pm 0,00$	$0,34 \pm 0,04$	$0,41 \pm 0,00$
cis-11,14,17-eicosatrienová	-	-	$0,37 \pm 0,00$
cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenová	$0,18 \pm 0,00$	$0,06 \pm 0,00$	$0,07 \pm 0,00$
behenová	$1,67 \pm 0,00$	$0,16 \pm 0,00$	$0,24 \pm 0,64$
eruková	$0,16 \pm 0,00$	-	$0,56 \pm 0,00$
trikosanová	$0,09 \pm 0,01$	-	-
lignocerová	$0,21 \pm 0,10$	$0,08 \pm 0,00$	$0,16 \pm 0,07$
cis-4,7,10,13,16,19-docosaheptaenová	-	-	$0,06 \pm 0,00$
nervonová	$0,88 \pm 0,00$	-	-

Tabulka 4.5: Obsah mastných kyselin identifikovaných ve zralých sýrech ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku)

	c [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku]		
Mastná kyselina	vzorek Z1	vzorek Z2	vzorek Z3
máselná	80,79 ± 17,99	-	67,60 ± 0,00
kapronová	13,46 ± 1,23	18,09 ± 0,94	18,24 ± 2,60
kaprylová	6,00 ± 0,29	7,22 ± 0,39	7,43 ± 1,04
kaprinová	19,66 ± 0,65	23,83 ± 1,44	24,42 ± 3,36
undekanová	0,88 ± 0,03	1,16 ± 0,14	1,18 ± 0,22
laurová	27,26 ± 0,43	32,86 ± 2,63	33,69 ± 4,32
tridekanová	1,40 ± 0,01	1,69 ± 0,16	1,71 ± 0,21
myristová	89,45 ± 0,14	105,71 ± 11,90	106,47 ± 12,60
myristoolejová	8,73 ± 0,04	11,34 ± 2,07	11,38 ± 2,16
pentadekanová	12,71 ± 0,29	14,97 ± 2,15	14,88 ± 1,75
cis-10-pentadecenová	1,75 ± 0,07	1,98 ± 0,33	1,97 ± 0,24
palmitová	231,70 ± 8,37	261,84 ± 45,01	225,91 ± 2,48
palmitoolejová	15,11 ± 0,81	17,36 ± 2,86	17,12 ± 1,95
heptadekanová	5,87 ± 0,31	6,84 ± 1,57	6,82 ± 0,89
cis-10-heptadecenová	2,67 ± 0,13	3,26 ± 0,69	3,18 ± 0,34
stearová	47,34 ± 1,97	56,13 ± 10,90	54,60 ± 4,90
elaidová	3,69 ± 0,00	-	-
olejová	119,19 ± 3,75	131,38 ± 21,50	140,14 ± 6,91
linolelaidová	2,09 ± 0,21	2,93 ± 0,68	2,61 ± 0,19
linolová	23,15 ± 7,23	17,82 ± 2,67	21,51 ± 5,74
gama-linolenová	0,51 ± 0,17	1,15 ± 0,15	0,48 ± 0,26
linolenová	5,76 ± 2,57	7,22 ± 1,21	3,41 ± 0,34
cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenová	0,10 ± 0,00	0,15 ± 0,00	0,12 ± 0,00

Tabulka 4.6: Obsah mastných kyselin identifikovaných ve zralých sýrech ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra)

	c [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra]		
Mastná kyselina	vzorek Z1	vzorek Z2	vzorek Z3
máselná	27,14 ± 4,49	-	20,96 ± 0,00
kapronová	4,61 ± 0,69	3,65 ± 0,22	5,65 ± 0,81
kaprylová	2,05 ± 0,22	1,46 ± 0,09	2,30 ± 0,32
kaprinová	6,70 ± 0,62	4,81 ± 0,33	7,57 ± 1,04
undekanová	0,30 ± 0,03	0,23 ± 0,03	0,37 ± 0,07
laurová	9,29 ± 0,70	6,63 ± 0,59	10,44 ± 1,34
tridekanová	0,48 ± 0,03	0,34 ± 0,04	0,53 ± 0,06
myristová	30,45 ± 1,76	21,34 ± 2,58	33,00 ± 3,91

Tabulka 4.6 pokračování: Obsah mastných kyselin identifikovaných ve zralých sýrech ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra)

Mastná kyselina	c [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra]		
	vzorek Z1	vzorek Z2	vzorek Z3
myristoolejová	$2,97 \pm 0,16$	$2,29 \pm 0,44$	$3,53 \pm 0,67$
pentadekanová	$4,32 \pm 0,16$	$3,02 \pm 0,46$	$4,61 \pm 0,54$
cis-10-pentadecenová	$0,60 \pm 0,01$	$0,40 \pm 0,07$	$0,61 \pm 0,08$
palmitová	$78,70 \pm 1,83$	$52,89 \pm 9,52$	$70,02 \pm 0,76$
palmitoolejová	$5,13 \pm 0,03$	$3,51 \pm 0,61$	$5,31 \pm 0,61$
heptadekanová	$1,99 \pm 0,01$	$1,38 \pm 0,33$	$2,11 \pm 0,28$
cis-10-heptadecenová	$0,91 \pm 0,01$	$0,66 \pm 0,15$	$0,99 \pm 0,11$
stearová	$16,07 \pm 0,29$	$11,34 \pm 2,29$	$16,92 \pm 1,52$
elaidová	$1,18 \pm 0,00$	-	-
olejová	$40,65 \pm 3,68$	$26,54 \pm 4,56$	$43,44 \pm 2,15$
linolelaidová	$0,72 \pm 0,12$	$0,59 \pm 0,14$	$0,81 \pm 0,06$
linolová	$8,02 \pm 2,93$	$3,60 \pm 0,57$	$6,67 \pm 1,78$
gama-linolenová	$0,18 \pm 0,07$	$0,23 \pm 0,03$	$0,15 \pm 0,08$
linolenová	$2,01 \pm 0,99$	$1,45 \pm 0,23$	$1,06 \pm 0,11$
cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenová	$0,03 \pm 0,00$	$0,03 \pm 0,00$	$0,04 \pm 0,00$

Mezi vzorky byly nalezeny výrazné rozdíly jak v počtu identifikovaných kyselin, tak i v jejich koncentraci. Vzhledem k tomu, že pro výrobu všech vzorků byla použita stejná surovina (syrové mléko), rozdíly je třeba přičítat především aplikaci různých pasteračních záhřevů.

4.2.1 Vliv pasteračního záhřevu na poměr nasycených, mono- a polynenasycených mastných kyselin ve vzorcích sýrů

V této kapitole je posouzen vliv pasteračního záhřevu mléka na poměr SFA, MUFA a PUFA ve zralých i nezralých sýrech. Lze předpokládat, že vyšší tepelné namáhání (výroba 1) bude mít negativní účinek především na nenasycené MK.

4.2.1.1 Nezralé sýry

V Grafech 4.1 – 4.3 je uvedeno procentuální srovnání jednotlivých skupin mastných kyselin (SFA, MUFA, PUFA) v nezralých sýrech. Jejich obsah odpovídá výše zmíněným poznatkům o složení mléčného tuku, ve všech vzorcích je nejvíce SFA, potom MUFA a nejméně PUFA [59].

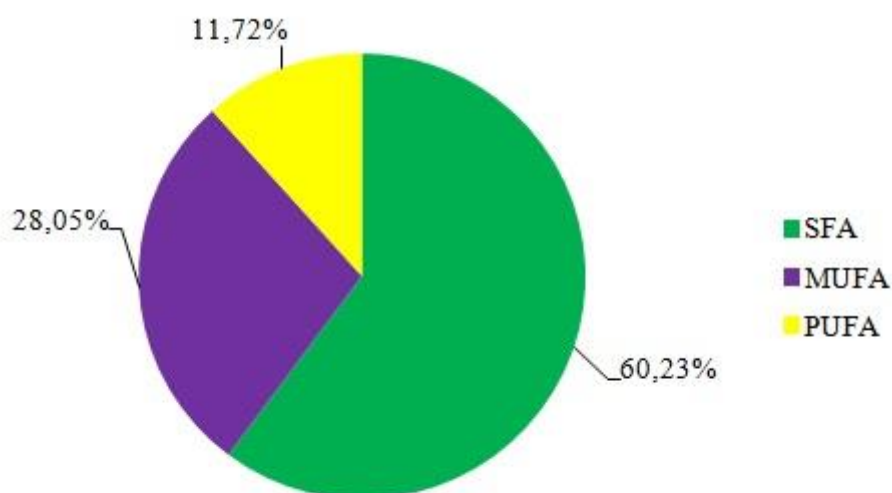
Nejvíce SFA se nacházelo ve vzorku N2, nejméně ve vzorku N3 (dokonce méně než literaturou uváděné rozmezí 60 – 70 %)[25]; nejvíce MUFA ve vzorku N3, nejméně ve

vzorku N2 (také méně než literaturou uváděné rozmezí 26 – 42 %)[59]; ve vzorcích N1 a N3 byl nalezen vysoký podíl PUFA, výrazně víc než literaturou uváděné rozmezí (2 – 6 %)[59].

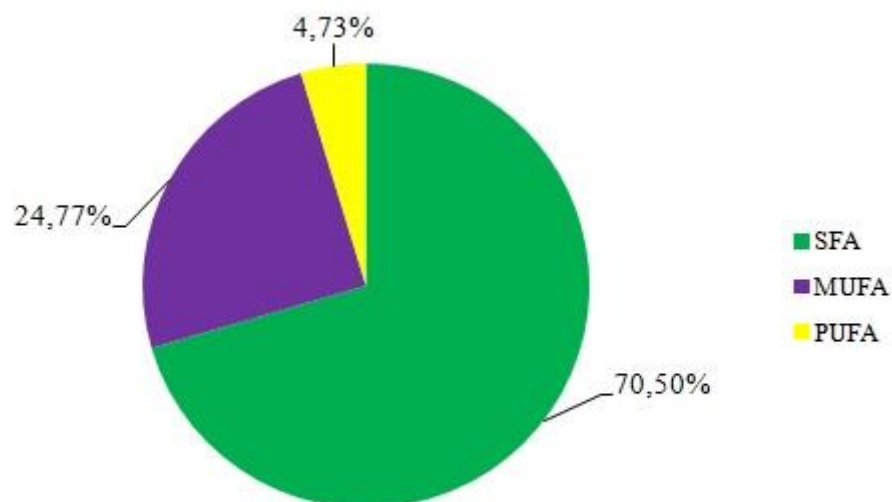
Vzorek N2 je tedy charakterizován vysokým obsahem SFA a nízkým obsahem MUFA a především PUFA. Složení vzorků N1 a N3 je podobné, vzorek N1 obsahuje mírně vyšší obsah SFA a nižší obsah MUFA.

Celkově byly výsledky v rozporu s očekáváním, ve vzorku N1 bylo nalezeno nejvíce PUFA i poměrně vysoký obsah MUFA. Složení bylo obdobné vzorku N3, kde byl záhřev naopak nejšetrnější.

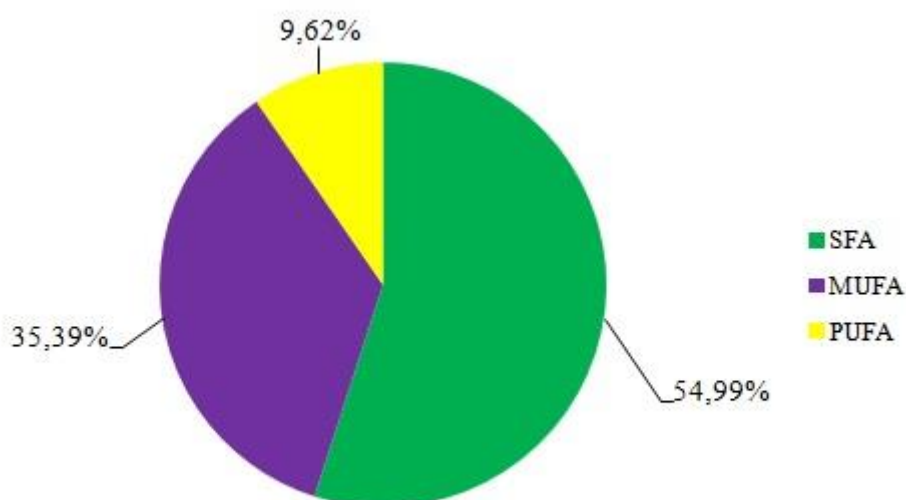
Podstatně výrazněji než pasterační účinek se projevila samotná vyšší teplota pasteračního záhřevu, která poškozuje nenasycené MK, především PUFA, které velmi snadno podléhají oxidaci; vzorek N2 (80 °C/30 s) obsahoval nejméně MUFA i PUFA. Toto zjištění je v souladu s dostupnou literaturou [16]. Delší doba pasterace (65 °C/30 min), i když při nízké teplotě, poškozuje hlavně MUFA, SFA a PUFA kupodivu méně.



Graf 4.1: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin (SFA, MUFA, PUFA) ve vzorku N1 (65 °C/30 min)



Graf 4.2: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin (SFA, MUFA, PUFA) ve vzorku N2 (80 °C/30 s)



Graf 4.3: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin (SFA, MUFA, PUFA) ve vzorku N3 (74 °C/30 s)

4.2.1.2 Zralé sýry

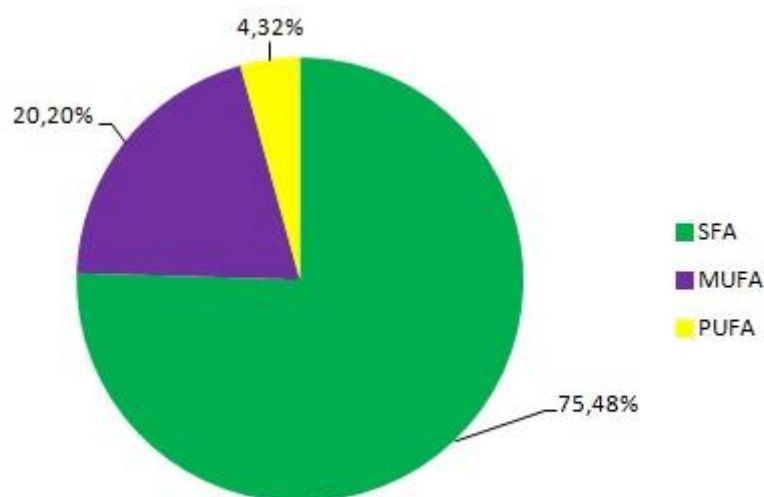
V Grafech 4.4 – 4.6 je uvedeno procentuální srovnání jednotlivých skupin mastných kyselin (SFA, MUFA, PUFA) ve zralých sýrech. Jejich obsah odpovídá výše zmíněným poznatkům o složení mléčného tuku, ve všech vzorcích je nejvíce SFA, potom MUFA a nejméně PUFA [59].

Nejvíce SFA se nacházelo ve vzorku Z1, nejméně ve vzorku Z2, ovšem ve všech třech vzorcích je obsah SFA vyšší než literaturou uváděné rozmezí 60 – 70 % [59]; nejvíce MUFA

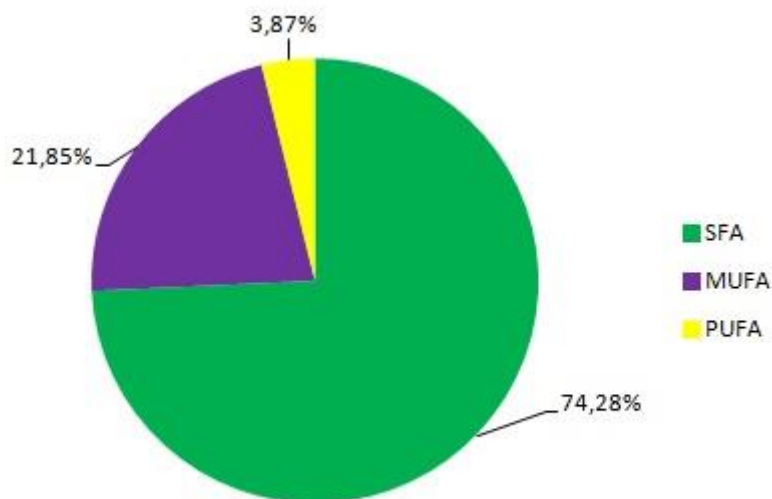
ve vzorku Z2, nejméně ve vzorku Z1, obsah MUFA ve všech třech vzorcích je nižší než literaturou uváděné rozmezí 26 – 42 %)[59]; ve vzorku Z1 byl nalezen největší obsah PUFA, nejmenší obsah byl ve vzorku Z3, co se týká obsahu PUFA, tak odpovídá literaturou uváděnému rozmezí (2 – 6 %)[59].

Vzorek Z1 je tedy charakterizován nejvyšším obsahem SFA a PUFA a nejnižším obsahem MUFA. Složení vzorků Z2 a Z3 je podobné, vzorek Z2 obsahuje mírně vyšší obsah PUFA.

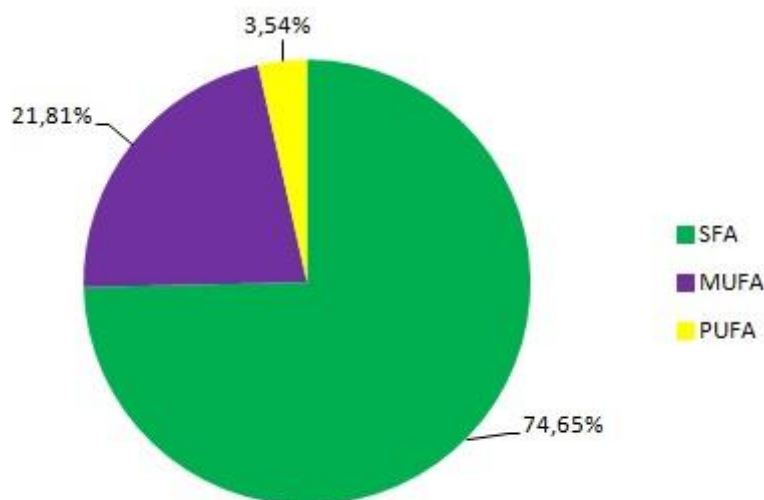
I u vzorků zralých sýrů byly zjištěné výsledky v rozporu s očekáváním, nebyly nalezeny velké rozdíly v obsahu SFA, PUFA a MUFA u jednotlivých výrob. Aplikovaný pasterační záhřev tedy neměl výrazný vliv na poměr SFA, MUFA a PUFA u zralých sýrů.



Graf 4.4: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin (SFA, MUFA, PUFA) ve vzorku Z1 (65 °C/30 min)



Graf 4.5: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin (SFA, MUFA, PUFA) ve vzorku Z2 (80 °C/30 s)



Graf 4.6: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin (SFA, MUFA, PUFA) ve vzorku Z3 (74 °C/30 s)

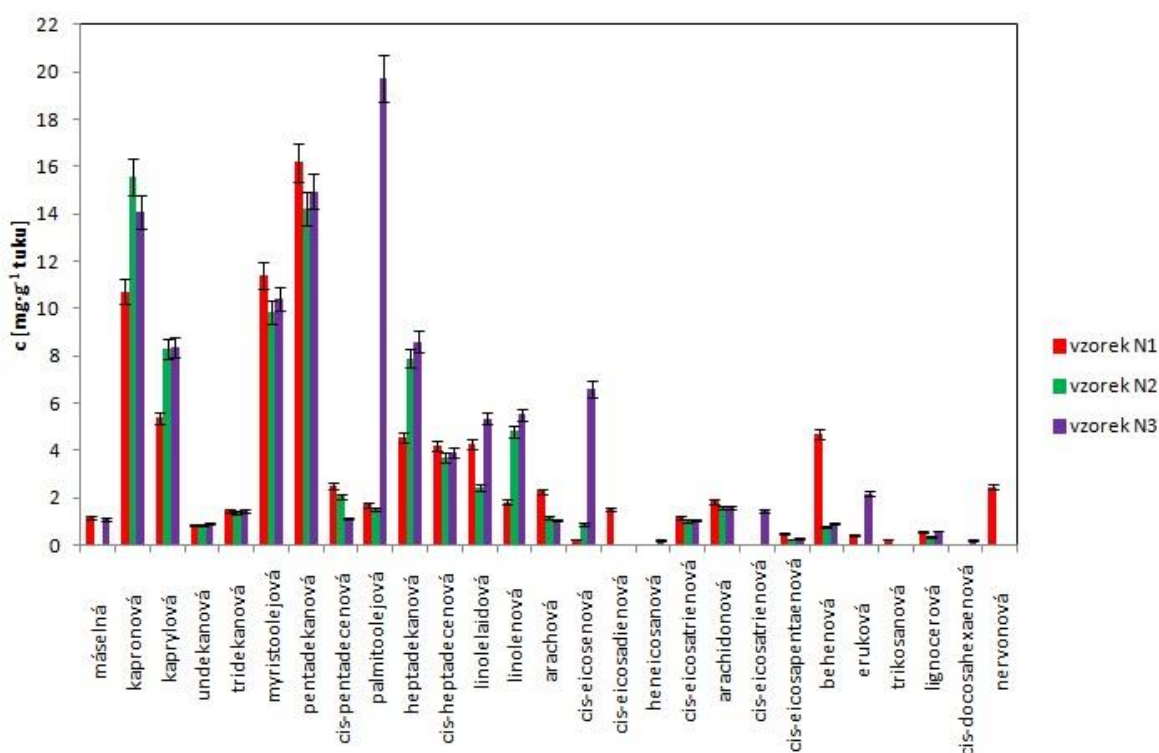
4.2.2 Vliv pasteračního záhřevu na obsah jednotlivých mastných kyselin ve vzorcích sýrů

Výsledky v následujících kapitolách jsou vyjádřeny formou sloupcových grafů. Vzhledem k poměrně velkým rozdílům v obsahu jednotlivých MK je každý graf rozdělený na dvě části, v horní a) MK s koncentrací pod 20 mg • g⁻¹ tuku, ve spodní b) MK s koncentrací nad 20 mg • g⁻¹ tuku.

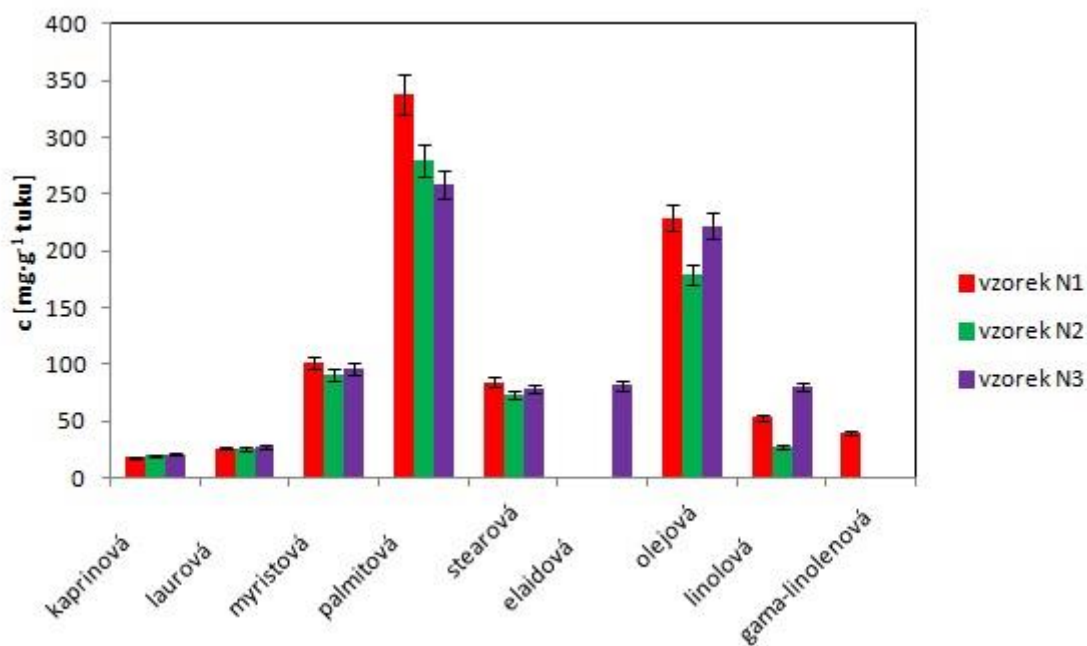
V této kapitole je posouzen vliv pasteračního záhřevu na obsah a složení jednotlivých MK ve zralých i nezralých sýrech. Opět lze předpokládat, že vyšší tepelné namáhání (výroba 1) bude mít negativní účinek především na nenasycené MK.

Aplikovaný pasterační záhřev ovlivňoval složení MK ve vzorcích sýrů, výsledky jsou však poměrně proměnlivé a nejednoznačné a v rozporu s očekáváním. Určité trendy lze vypočítovat u kvantitativně nejvýznamnějších MK. V případě nezralých sýrů (grafy 4.7 a,b) byl většinou nejnižší obsah MK ve vzorcích N2 (mléko pasterované na nejvyšší teplotu); v případě zralých sýrů (grafy 4.8 a,b) většinou ve vzorcích Z1 (nejvyšší pasterační záhřev).

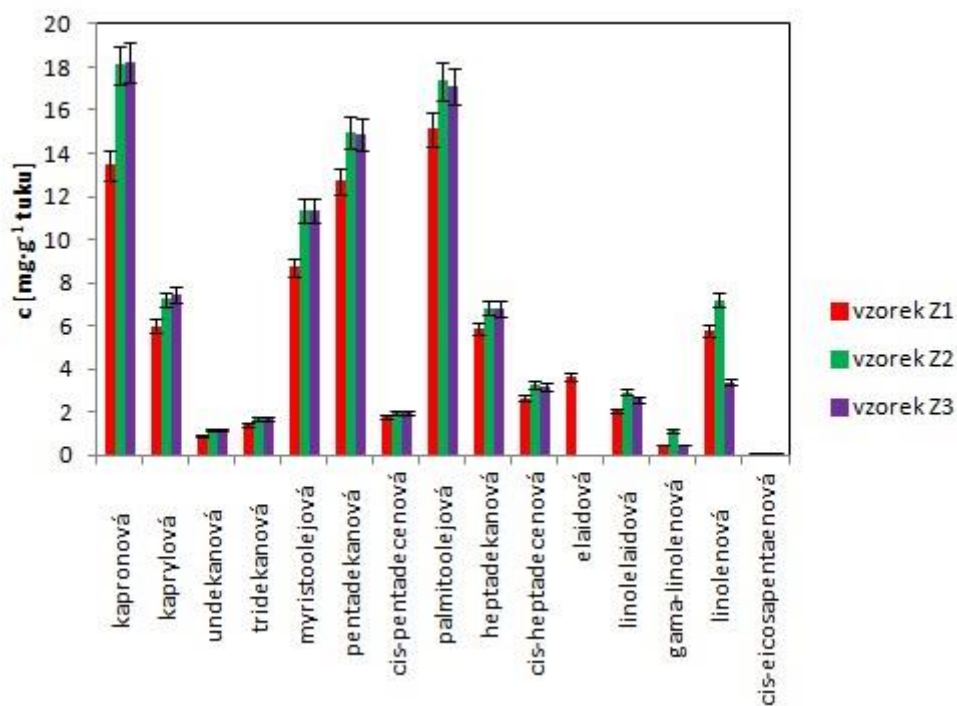
Při výrobě sýrů se v praxi nejčastěji používá krátkodobá šetrná pasterace, kdy se mléko zahřeje na teplotu 72 – 74 °C po dobu 20 – 40 s [4, 7], u sýrů typu eidam se aplikují teploty 74 – 78 °C [7]. Tomu nejlépe odpovídá vzorek N3 (pasterační záhřev 74 °C 30 s), nicméně jeho složení MK bylo podobné jako u vzorku N1 (pasterovaný 65 °C/30 min), zvláště co se týká kvantitativně nejvýznamnějších MK.



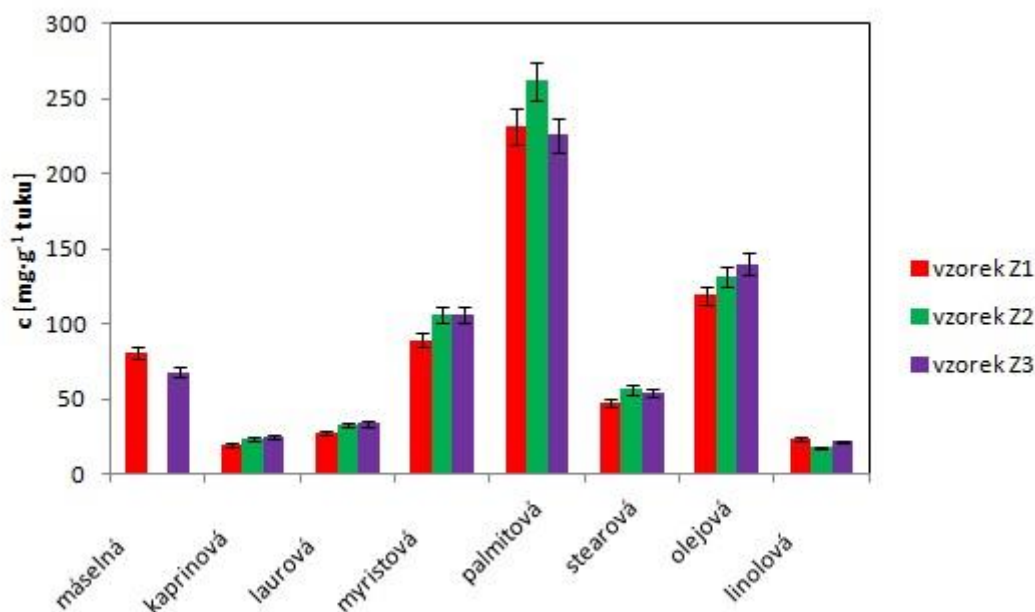
Graf 4.7a: Srovnání obsahu mastných kyselin ve vzorku N1, N2 a N3 s koncentrací pod 20 mg · g⁻¹



Graf 4.7b: Srovnání obsahu mastných kyselin ve vzorku N1, N2 a N3 s koncentrací nad 20 mg · g⁻¹



Graf 4.8a: Srovnání obsahu mastných kyselin ve vzorku Z1, Z2 a Z3 s koncentrací pod 20 mg · g⁻¹

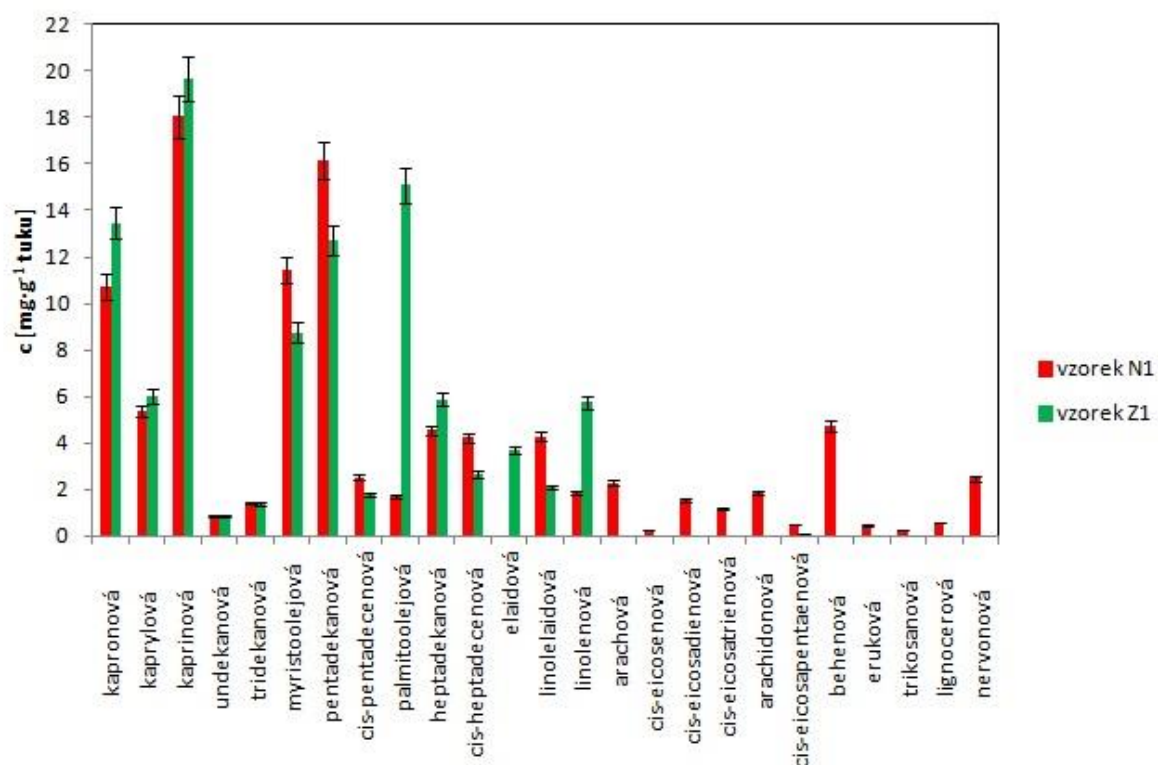


Graf 4.8b: Srovnání obsahu mastných kyselin ve vzorku Z1, Z2 a Z3 s koncentrací nad 20 mg · g⁻¹

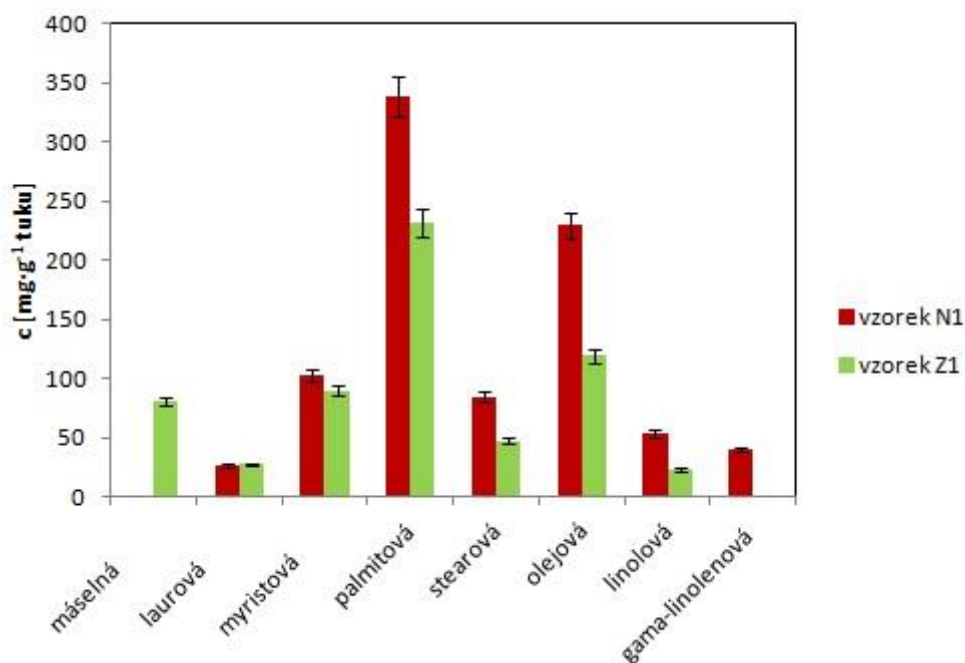
4.2.3 Vliv zrání na obsah jednotlivých mastných kyselin ve vzorcích sýrů

Lipidy v sýrech mohou podléhat oxidační a/nebo hydrolytické degradaci. Oxidace lipidů v sýrech většinou nebývá příliš rozsáhlá, pravděpodobně kvůli nízkému redoxnímu potenciálu (-250 mV) a přítomnosti přirozených antioxidantů (např. vitamin E). Na druhou stranu enzymatická hydrolýza triacylglycerolů na mono-/di- acylglyceroly a volné MK (lipolýza) je jedním ze zásadních procesů probíhajících během zrání sýrů a je považována, spolu s proteolýzou, za hlavní metabolickou cestu pro tvorbu chuti a vůně sýra [16].

Dalším cílem práce bylo proto posoudit změny identifikovaných MK v průběhu zrání sýrů, v závislosti na použitém pasteračním záhřevu. Vzhledem k tomu, že byly k dispozici pouze vzorky na začátku a na konci zrání (stáří 2 měsíce), v grafech 4.9 – 4.11 je uvedeno vždy srovnání sýrů příslušné řady (N vs. Z).



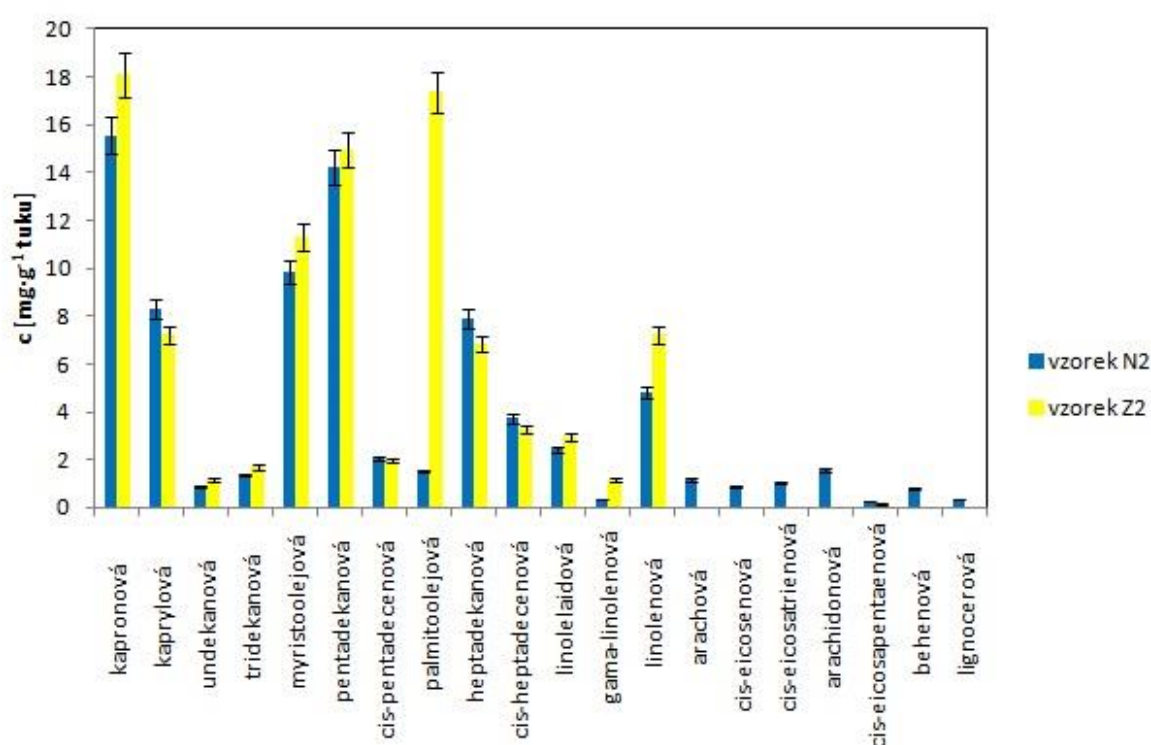
Graf 4.9a: Obsah mastných kyselin ve vzorku N1 a ve vzorku Z1 s koncentrací pod $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku (pasterační záhřev $65^\circ\text{C}/30 \text{ min}$)



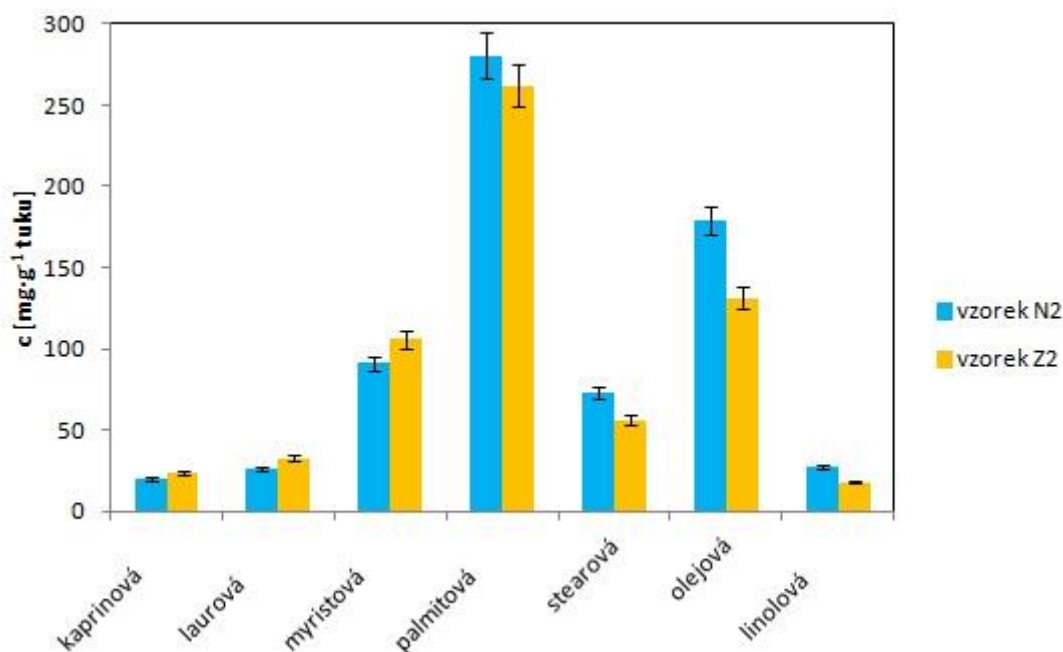
Graf 4.9b: Obsah mastných kyselin ve vzorku N1 a ve vzorku Z1 s koncentrací nad $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku (pasterační záhřev $65^\circ\text{C}/30 \text{ min}$)

Ve vzorku N1 (pasterační záhřev 65 °C/30 min) bylo identifikováno celkem 32 mastných kyselin. Jak je patrné z grafu 4.9 z kvantitativního hlediska byly nejvýznamnější kyseliny myristová, palmitová, stearová a olejová, z polynenasycených pak linolová a gama-linolenová.

Ve vzorku Z1 bylo identifikováno celkem 23 mastných kyselin. Jak je patrné z grafu 4.9 z kvantitativního hlediska byly nejvýznamnější kyseliny myristová, palmitová, stearová a olejová, z nenasycených elaidová a z polynenasycených pak kyselina linolová.



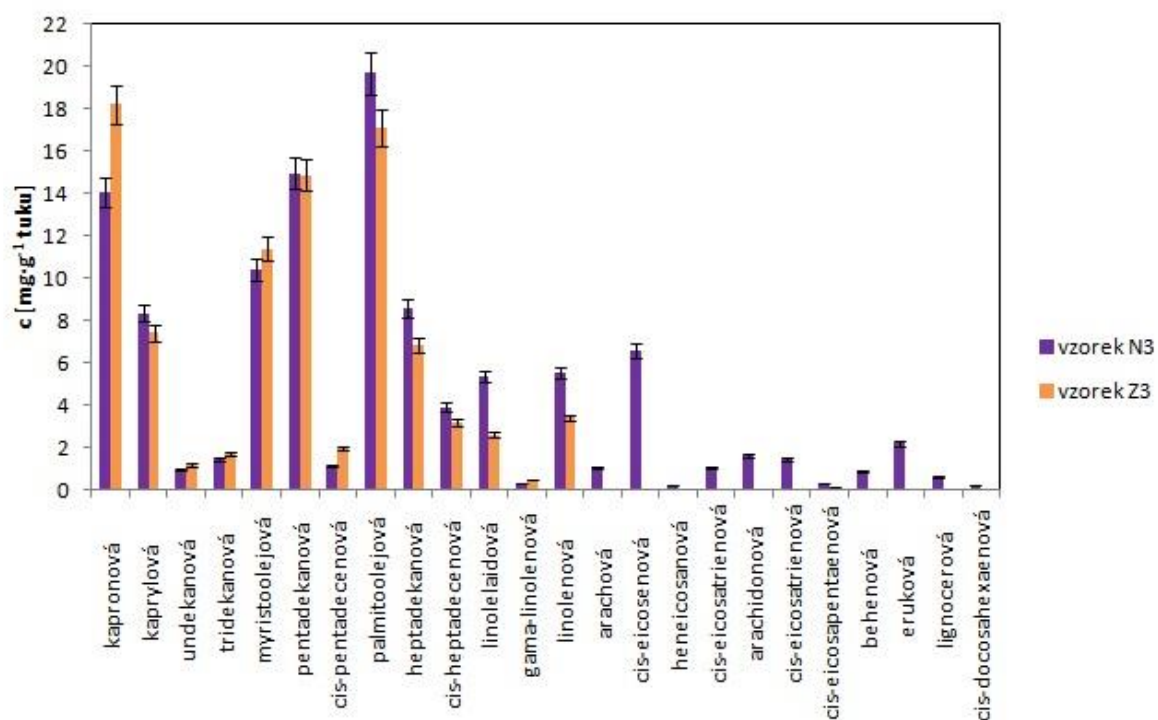
Graf 4.10a: Obsah mastných kyselin ve vzorku N2 a ve vzorku Z2 s koncentrací pod 20 mg · g⁻¹ tuku (pasterační záhřev 80 °C/30 s)



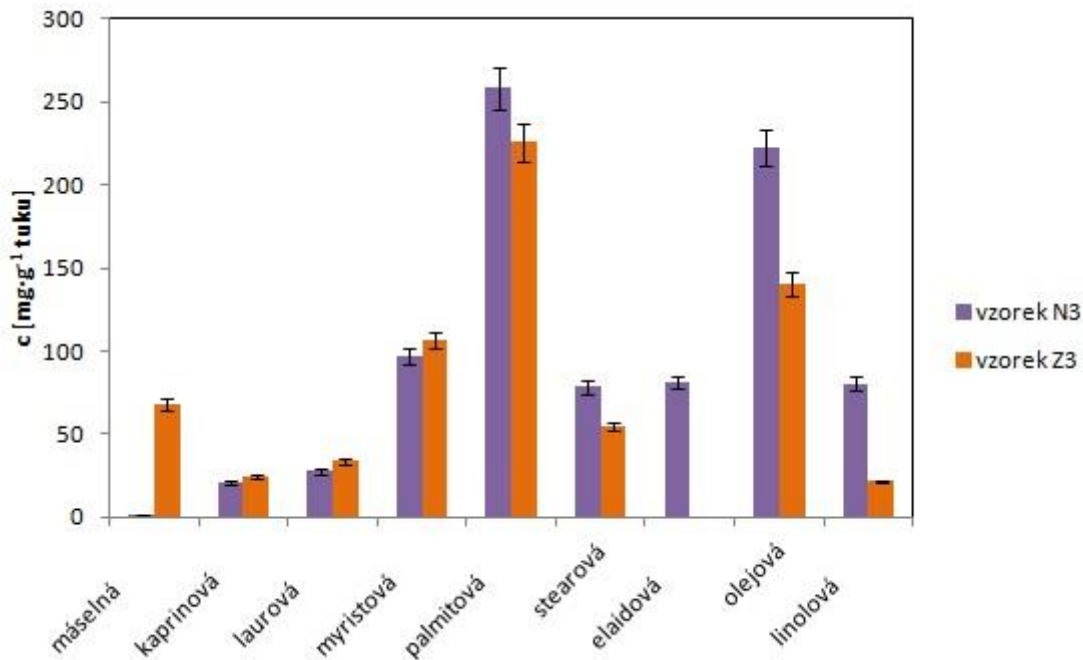
Graf 4.10b: Obsah mastných kyselin ve vzorku N2 a ve vzorku Z2 s koncentrací nad $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ tuku}$ (pasterační záhřev $80^\circ\text{C}/30 \text{ s}$)

Ve vzorku N2 (pasterační záhřev $80^\circ\text{C}/30 \text{ s}$) bylo identifikováno celkem 27 mastných kyselin. Zde výrazně převažuje obsah kyseliny palmitové (viz graf 4.10), ve vysokých koncentracích se nachází také kyselina myristová, stearová a olejová, z polynenasycených pak linolová.

Ve vzorku Z2 bylo identifikováno celkem 21 mastných kyselin. Zde opět výrazně převažuje obsah kyseliny palmitové (viz graf 4.10), ve vysokých koncentracích se nachází také kyselina myristová, stearová a olejová, z polynenasycených pak linolová.



Graf 4.11a: Obsah mastných kyselin ve vzorku N3 a ve vzorku Z3 s koncentrací pod $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku (pasterační záhřev $74^\circ\text{C}/30 \text{ s}$)



Graf 4.11b: Obsah mastných kyselin ve vzorku N3 a ve vzorku Z3 s koncentrací nad $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku (pasterační záhřev $74^\circ\text{C}/30 \text{ s}$)

Ve vzorku N3 (pasterační záhřev 74 °C/30 s) bylo identifikováno celkem 33 mastných kyselin. Zde je kvantitativně nejvýznamnější kyselina palmitová a olejová, ve vysoké koncentraci se nachází i kyselina myristová, stearová, nenasycená elaidová (viz graf 4.11) a z polynenasycených opět linolová.

Ve vzorku Z3 bylo identifikováno celkem 22 mastných kyselin. Zde je kvantitativně nejvýznamnější kyselina palmitová a olejová, ve vysoké koncentraci se nachází i kyselina myristová, stearová (viz graf 4.11) a z polynenasycených opět linolová.

Složení MK sýrů všech tří výrob odpovídá výše zmíněným poznatkům o složení mléčného tuku [59], ve všech vzorcích převládají vysoké koncentrace nejdůležitějších mastných kyselin mléčného tuku: nasycené se středně dlouhým řetězcem (14 – 18 C) myristová, palmitová a stearová, z nenasycených je nejvýznamnější kyselina olejová; v mírně nižších koncentracích se pak nacházejí nasycené MK s krátkým řetězcem (6 – 12 C) kapronová, kaprylová, kaprinová a laurová. Obsah kyseliny máselné je poměrně nízký, to však může být způsobeno její poměrně obtížnou identifikací a především kvantifikací, poněvadž eluuje velmi blízko píku rozpouštědla. Z polynenasycených MK je ve všech vzorcích nejvíce kyseliny linolové. Obsah většiny ostatních MK se pohyboval pod 5 mg.g⁻¹ tuku, polynenasycených dokonce pod 1mg.g⁻¹ tuku. Pokud srovnáme vzorky mezi sebou, nejvíce MK bylo identifikováno ve vzorku N3 (33) a Z1 (23), nejméně ve vzorku N2 (27) a ve vzorku Z2 (21).

Trendy lze opět lépe pozorovat u kvantitativně významnějších MK a jsou obdobné u všech tří výrob. V průběhu zrání došlo k výraznému snížení počtu identifikovaných MK. Obsah MK s nižším počtem uhlíků v průběhu zrání stoupá, zhruba po MK laurovou (výroba 1), a myristovou (výroba 2 a 3), u víceuhlíkatých MK obsah naopak klesá. Lze předpokládat, že dochází k postupnému odbourávání především MK s delším uhlíkatým řetězcem za tvorby spektra těkavých aromatických sloučenin, nezbytných pro chuť a vůni sýrů. Co se týče MK zastoupených v nižších koncentracích, zráním sýrů se ztrácí MUFA a především PUFA.

4.3 Obsah mastných kyselin ve vzorcích tavených sýrů

Ze zralých sýrů byly standardním technologickým postupem vyrobeny sýry tavené (kap. 3.2), které byly následně analyzovány po 3 měsících skladování. Celkem byly vyrobeny opět tři série vzorků tavených sýrů (označené T1 – T3), které se lišily dobou tavení (1, 5 a 10 min). Nejvyššímu tepelnému namáhání tedy byly vystaveny vzorky T3.

Celkem bylo ve vzorcích tavených sýrů identifikováno 23 mastných kyselin. V tabulkách 4.7 a 4.8 je uveden přehled a obsah mastných kyselin identifikovaných v jednotlivých vzorcích (pro lepší přehlednost jsou uvedeny hodnoty jednotlivých kyselin v mg.g⁻¹ tuku i po přepočtu na mg.g⁻¹ sýra).

Tabulka 4.7: Obsah mastných kyselín identifikovaných v tavených sýrech ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku)

	c [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku]		
Mastná kyselina	vzorek T1	vzorek T2	vzorek T3
máselná	$73,74 \pm 14,04$	-	$75,44 \pm 7,67$
kapronová	$12,35 \pm 0,86$	$9,77 \pm 1,54$	$9,95 \pm 1,80$
kaprylová	$5,31 \pm 0,42$	$4,23 \pm 0,42$	$4,27 \pm 0,58$
kaprinová	$17,27 \pm 1,31$	$13,64 \pm 1,46$	$13,72 \pm 1,74$
undekanová	$0,70 \pm 0,05$	$0,54 \pm 0,07$	$0,57 \pm 0,08$
laurová	$23,42 \pm 1,54$	$18,33 \pm 2,05$	$18,07 \pm 2,47$
tridekanová	$1,12 \pm 0,07$	$0,86 \pm 0,10$	$0,88 \pm 0,11$
myristová	$74,75 \pm 2,45$	$56,63 \pm 6,80$	$54,56 \pm 8,15$
myristoolejová	$5,02 \pm 2,35$	$5,30 \pm 0,67$	$5,14 \pm 0,81$
pentadekanová	$9,53 \pm 0,12$	$7,05 \pm 1,06$	$6,85 \pm 1,18$
cis-10-pentadecenová	$1,41 \pm 0,00$	$1,03 \pm 0,15$	$0,94 \pm 0,20$
palmitová	$178,21 \pm 4,66$	$126,46 \pm 17,95$	$120,92 \pm 20,86$
palmitoolejová	$11,58 \pm 0,11$	$8,25 \pm 1,21$	$8,01 \pm 1,74$
heptadekanová	$4,11 \pm 0,21$	$2,76 \pm 0,48$	$2,67 \pm 0,54$
cis-10-heptadecenová	$1,96 \pm 0,08$	$1,32 \pm 0,22$	$1,30 \pm 0,27$
stearová	$39,63 \pm 5,37$	$26,94 \pm 2,38$	$25,46 \pm 2,30$
elaidová	$2,44 \pm 0,00$	-	-
olejová	$98,00 \pm 9,31$	$69,10 \pm 1,66$	$68,09 \pm 11,68$
linolelaidová	$1,80 \pm 0,15$	$1,10 \pm 0,33$	$1,06 \pm 0,42$
linolová	$14,66 \pm 1,53$	$12,87 \pm 3,98$	$15,57 \pm 5,71$
gama-linolenová	$0,90 \pm 0,21$	$0,35 \pm 0,03$	$0,44 \pm 0,07$
linolenová	$7,45 \pm 2,82$	$1,62 \pm 0,28$	$3,87 \pm 2,12$
behenová	$3,20 \pm 0,00$	-	-

Tabulka 4.8: Obsah mastných kyselín identifikovaných v tavených sýrech ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra)

	c [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra]		
Mastná kyselina	vzorek T1	vzorek T2	vzorek T3
máselná	$17,20 \pm 3,85$	-	$17,70 \pm 2,06$
kapronová	$2,85 \pm 0,10$	$2,20 \pm 0,36$	$2,34 \pm 0,46$
kaprylová	$1,23 \pm 0,05$	$0,95 \pm 0,10$	$1,00 \pm 0,15$
kaprinová	$3,99 \pm 0,16$	$3,08 \pm 0,34$	$3,22 \pm 0,45$
undekanová	$0,16 \pm 0,01$	$0,12 \pm 0,02$	$0,13 \pm 0,02$
laurová	$5,42 \pm 0,17$	$4,14 \pm 0,48$	$4,24 \pm 0,64$
tridekanová	$0,26 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,02$	$0,21 \pm 0,03$
myristová	$17,30 \pm 0,03$	$12,78 \pm 1,60$	$12,81 \pm 2,10$

Tabulka 4.8 pokračování: Obsah mastných kyselin identifikovaných v tavených sýrech ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra)

Mastná kyselina	c [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra]		
	vzorek T1	vzorek T2	vzorek T3
myristoolejová	$1,15 \pm 0,50$	$1,20 \pm 0,16$	$1,21 \pm 0,21$
pentadekanová	$2,21 \pm 0,05$	$1,59 \pm 0,25$	$1,61 \pm 0,30$
cis-10-pentadecenová	$0,33 \pm 0,01$	$0,23 \pm 0,04$	$0,22 \pm 0,05$
palmitová	$41,34 \pm 2,51$	$28,54 \pm 4,19$	$28,40 \pm 5,30$
palmitoolejová	$2,68 \pm 0,12$	$1,86 \pm 0,28$	$1,88 \pm 0,44$
heptadekanová	$0,95 \pm 0,08$	$0,62 \pm 0,11$	$0,63 \pm 0,14$
cis-10-heptadecenová	$0,45 \pm 0,04$	$0,30 \pm 0,05$	$0,31 \pm 0,07$
stearová	$9,23 \pm 1,56$	$6,08 \pm 0,57$	$5,97 \pm 0,63$
elaidová	$0,55 \pm 0,00$	-	-
olejová	$22,79 \pm 2,95$	$15,58 \pm 0,45$	$15,99 \pm 2,97$
linolelaidová	$0,42 \pm 0,05$	$0,25 \pm 0,07$	$0,25 \pm 0,10$
linolová	$3,41 \pm 0,47$	$2,90 \pm 0,88$	$3,63 \pm 1,28$
gama-linolenová	$0,21 \pm 0,06$	$0,08 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,01$
linolenová	$1,75 \pm 0,71$	$0,36 \pm 0,07$	$0,90 \pm 0,48$
behenová	$0,77 \pm 0,00$	-	-

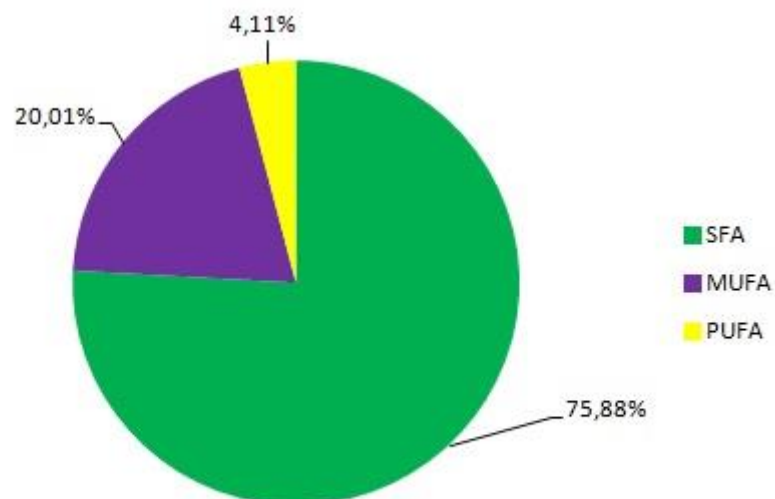
4.3.1 Vliv tavicího záhřevu na poměr nasycených, mono- a polynenasycených mastných kyselin ve vzorcích tavených sýrů

Podobně jako v případě sýrů (kap. 4.1.1) byl nejprve posouzen vliv tavicího záhřevu na poměr SFA, MUFA a PUFA. Vzhledem k tomu, že všechny sýry byly taveny při stejné teplotě $85\text{ }^{\circ}\text{C}$, lze předpokládat, že čím delší doba tavení, tím výraznější účinek, především na nenasycené MK. Výsledky jsou uvedeny v grafech 4.12-4.14.

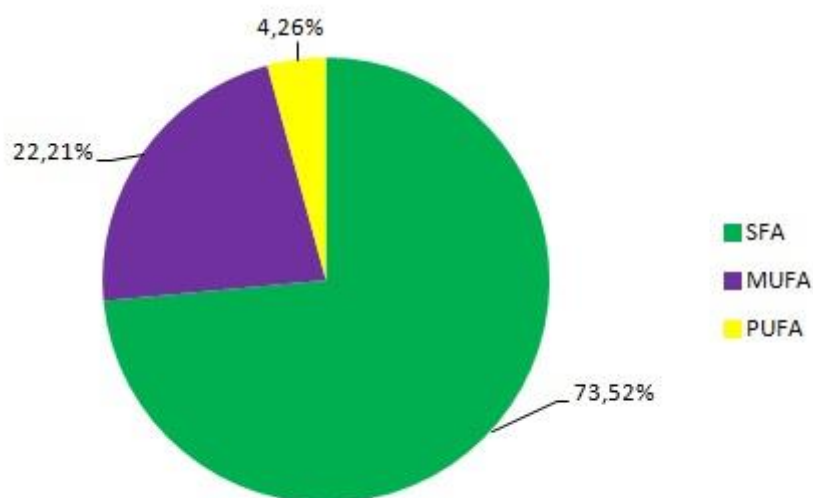
Nejvíce SFA se nacházelo ve vzorku T3, nejméně ve vzorku T2, ovšem ve všech třech vzorcích je obsah SFA vyšší než literaturou uváděné rozmezí 60 – 70 % [59]; nejvíce MUFA se nachází ve vzorku T2, nejméně ve vzorku T1, obsah MUFA ve všech třech vzorcích je výrazně nižší než literaturou uváděné rozmezí 26 – 42 % [59]; ve vzorku T3 byl nalezen největší obsah PUFA, nejmenší obsah byl ve vzorku T1, co se týká obsahu PUFA, tak odpovídá literaturou uváděnému rozmezí (2 – 6 %) [59].

Vzorek T3 je tedy charakterizován nejvyšším obsahem SFA a PUFA a nejnižším obsahem MUFA. Složení vzorků T1 a T2 je podobné v obsahu PUFA, vzorek T1 obsahuje mírně vyšší obsah SFA a nižší obsah MUFA.

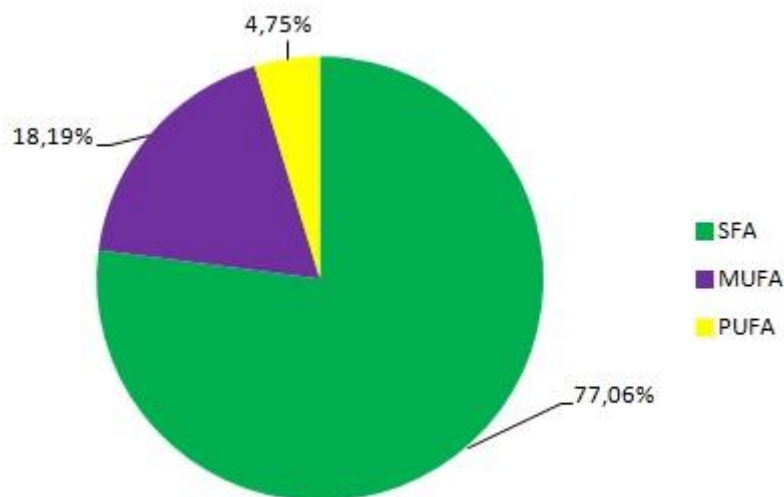
Stejně jako v případě pasteračního záhřevu také vliv tavicího záhřevu není jednoznačný a neodpovídá očekávání. Pouze v případě MUFA byl nalezen nejnižší obsah ve vzorku T3.



Graf 4.12: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin (SFA, MUFA, PUFA) ve vzorku T1 (pasterace: 65 °C/30 min, tavení: 85 °C/1 min)



Graf 4.13: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin (SFA, MUFA, PUFA) ve vzorku T2 (pasterace: 80 °C/30 s, tavení: 85 °C/5 min)



Graf 4.14: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin (SFA, MUFA, PUFA) ve vzorku T3 (pasterace: 74 °C/30 s, tavení: 85 °C/10 min)

4.3.2 Vliv tavicího záhřevu na obsah mastných kyselin ve vzorcích tavených sýrů

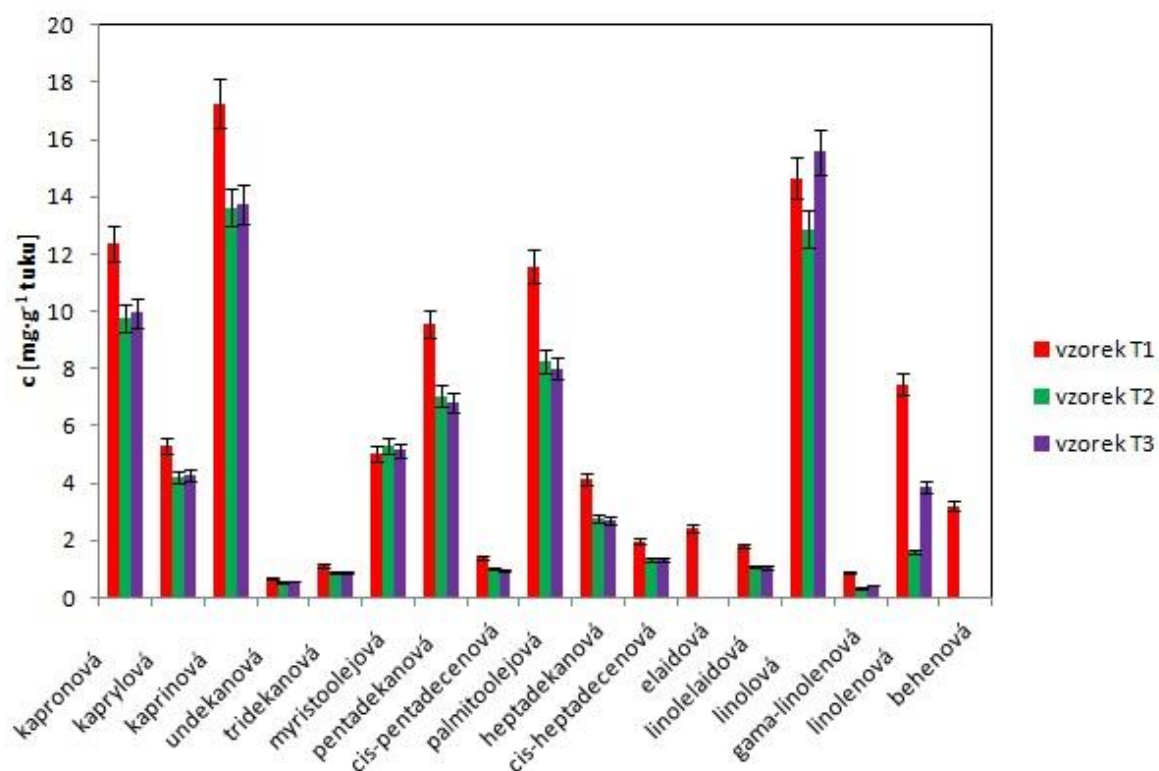
V této kapitole je posouzen vliv tavicího záhřevu na obsah a složení jednotlivých MK v tavených sýrech. Opět lze předpokládat, že vyšší tepelné namáhání (výroba 3) bude mít negativní účinek především na nenasycené MK. Výsledky jsou uvedeny v grafu 4.15.

Ve vzorku T1 (pasterační záhřev 65 °C/30 min, tavení 85 °C/1 min) bylo identifikováno celkem 23 mastných kyselin. Jak je patrné z grafu 4.15 z kvantitativního hlediska byly nejvýznamnější kyseliny myristová, palmitová, stearová a olejová, z nenasycených elaidová a z polynenasycených pak linolová.

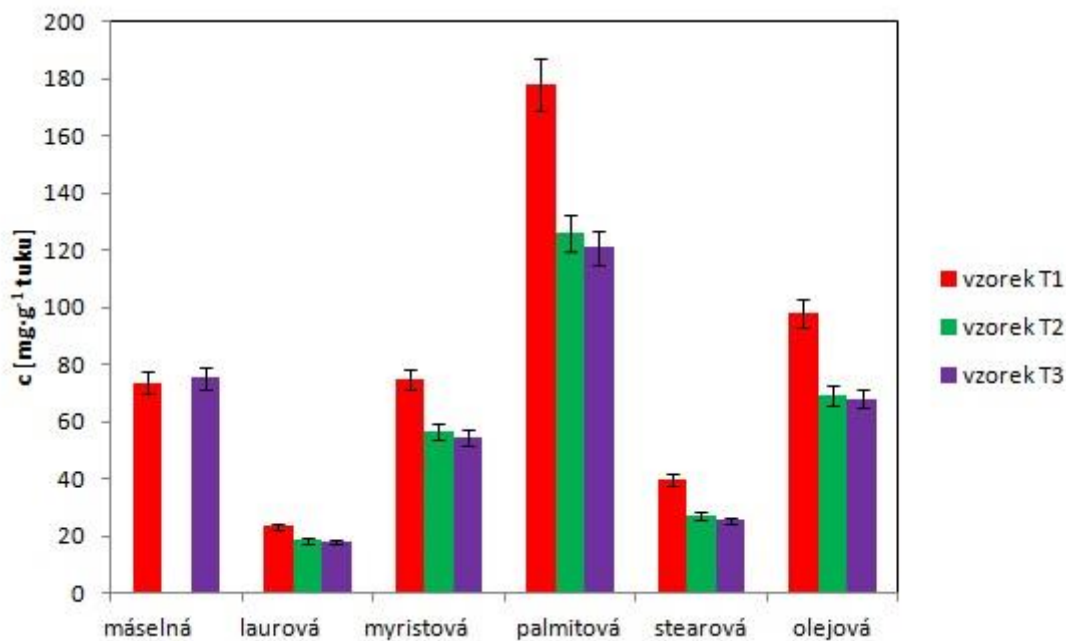
Ve vzorku T2 (pasterační záhřev 80 °C/30 s, tavení 85 °C/5 min) bylo identifikováno celkem 20 mastných kyselin. Zde výrazně převažuje obsah kyseliny palmitové (viz graf 4.15), ve vysokých koncentracích se nachází také kyselina myristová, stearová a olejová, z polynenasycených pak linolová.

Ve vzorku T3 (pasterační záhřev 74 °C/30 s, tavení 85 °C/10 min) bylo identifikováno celkem 21 mastných kyselin. Zde je kvantitativně nejvýznamnější kyselina palmitová a olejová, ve vysoké koncentraci se nachází i kyselina myristová, stearová, nenasycená elaidová (viz graf 4.15) a z polynenasycených opět linolová.

Zvláště v případě kvantitativně nejvýznamnějších MK jsou výsledky v souladu s očekáváním (graf 4.15b); jejich obsah klesá v pořadí T1-T3. U MK obsažených v nižší koncentraci (graf 4.15a) vliv tavicího záhřevu není tak jednoznačný, nicméně ve vzorku T1 je většinou patrný nejvyšší obsah, vzorky T2 a T3 jsou podobné, v některých případech dokonce u T3 vyšší obsah MK.



Graf 4.15a: Srovnání obsahu mastných kyselin ve vzorku T1, T2 a T3 s koncentrací pod $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku



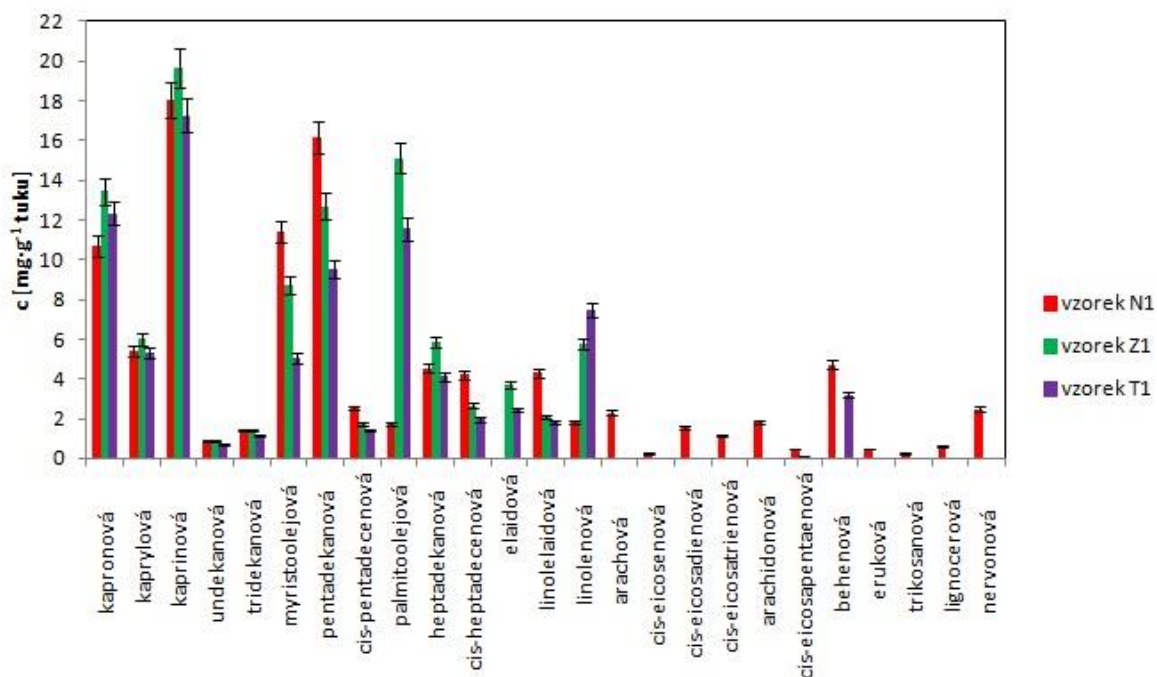
Graf 4.15b: Srovnání obsahu mastných kyselin ve vzorku T1, T2 a T3 s koncentrací nad $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku

4.4 Změny obsahu mastných kyselin v průběhu výroby sýrů/tavených sýrů

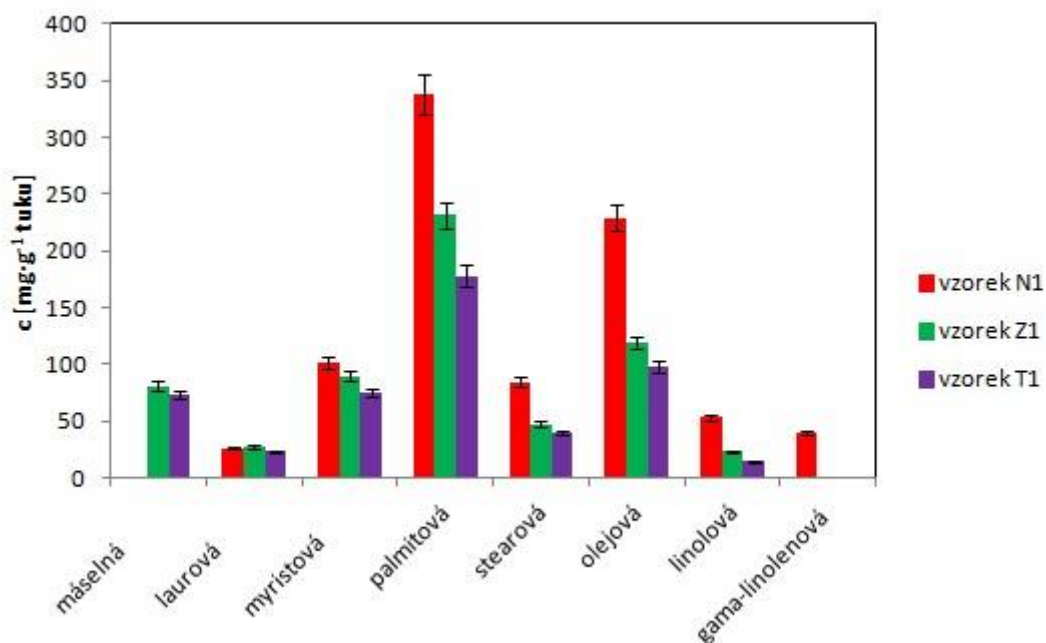
V této kapitole (grafy 4.16-4.18) jsou přehledně shrnuty změny obsahu MK v průběhu výroby přírodních a následně tavených sýrů. Jednotlivé výsledky vyšly podle našich očekávání, obsah MK většinou klesá v pořadí N-Z-T.

Jak již bylo zmíněno, v průběhu zrání sýrů dochází ke snížení počtu i obsahu MK (kap. 4.2.3) v důsledku postupného odbourávání za tvorby aromatických sloučenin.

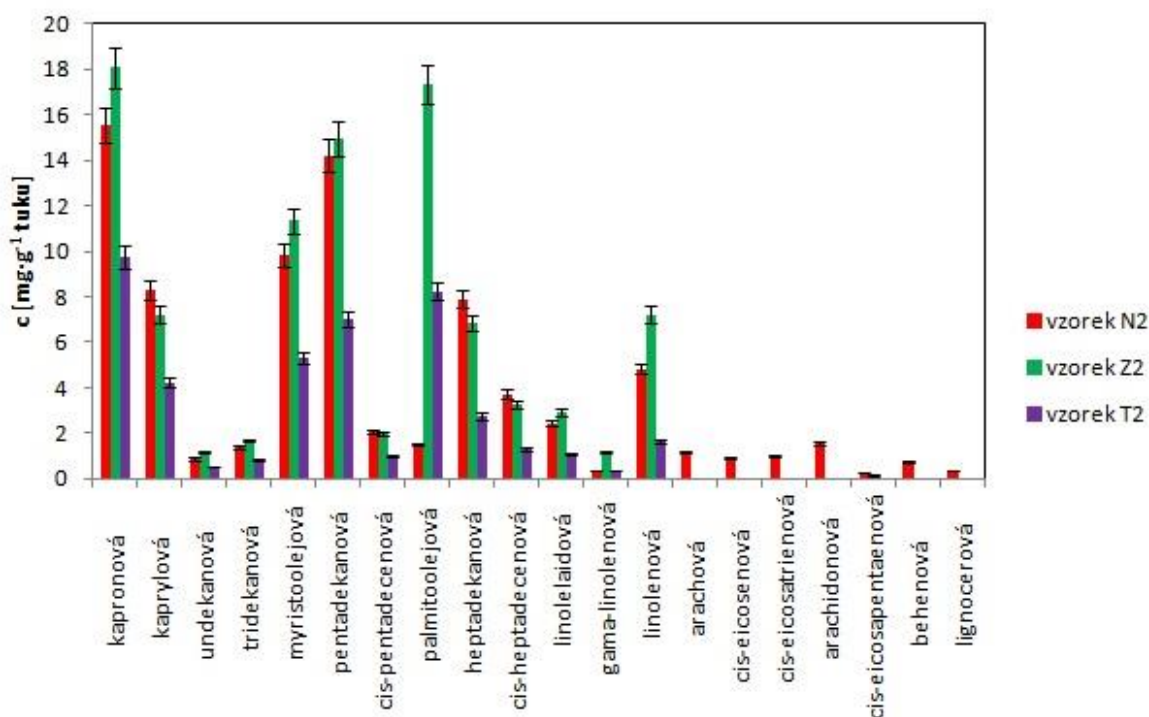
Co se týče tavených sýrů, při záhřevu běžnými tavicími teplotami (cca do 100 °C) by měla být inaktivována většina přítomných enzymů, nicméně malé množství termorezistentních lipolytických enzymů může katalyzovat pokračující lipolýzu. Aplikovaný tavicí záhřev navíc pravděpodobně podporuje oxidační změny nenasycených MK [9].



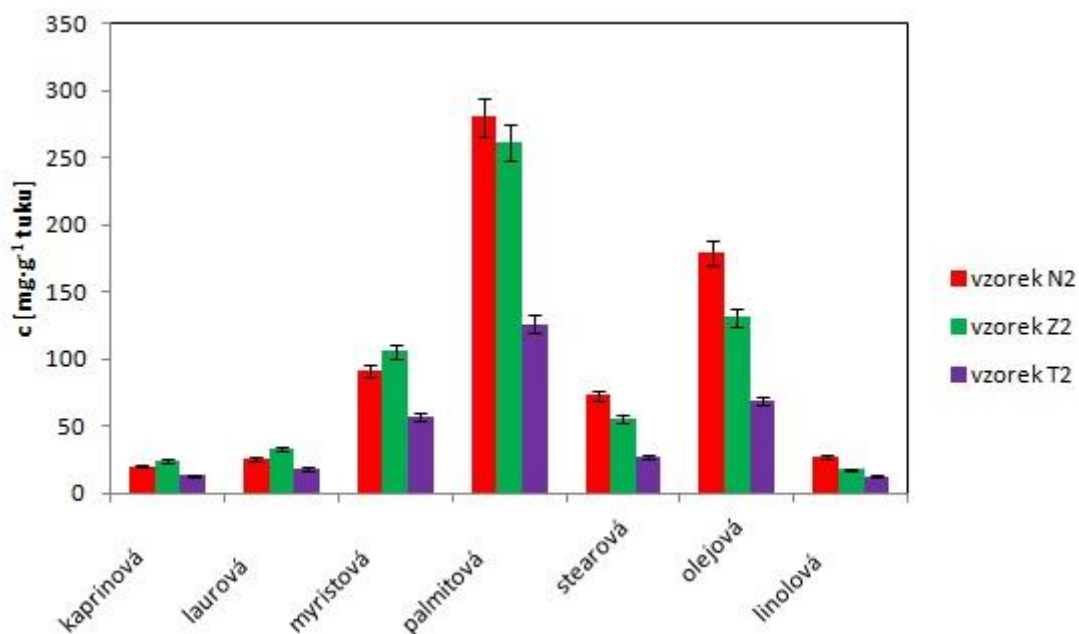
Graf 4.16a: Srovnání obsahů mastných kyselin ve vzorku N1, Z1 a T1 s koncentrací pod 20 mg · g⁻¹ tuku



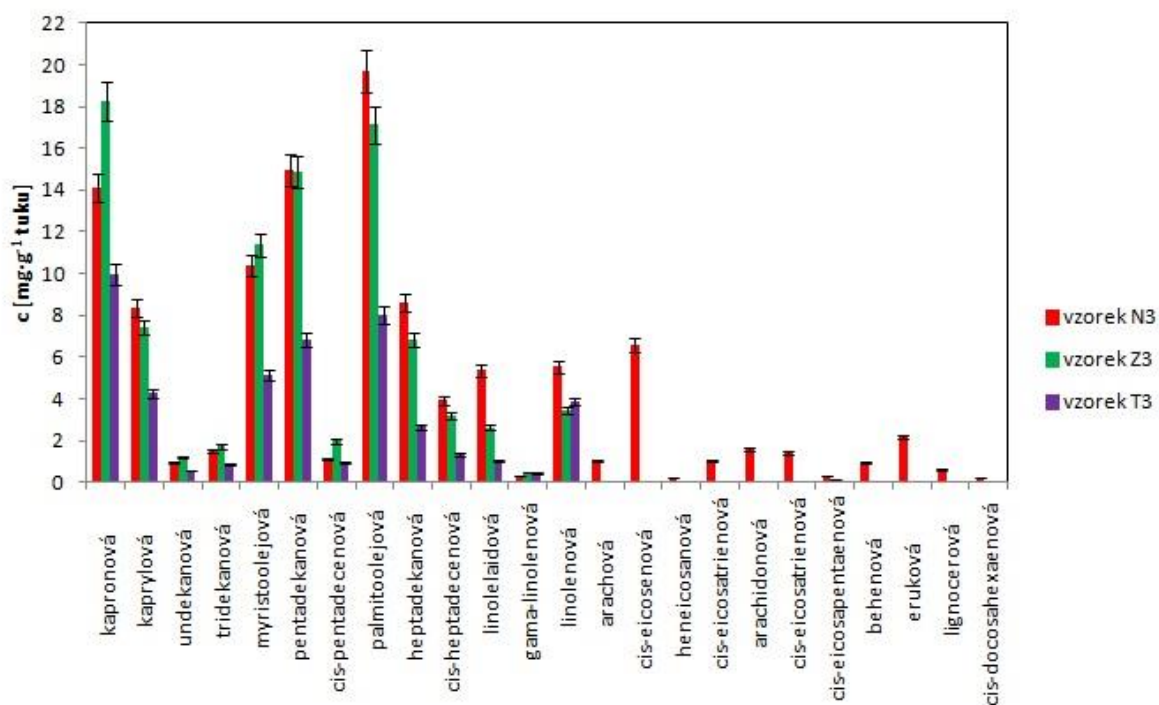
Graf 4.16b: Srovnání obsahů mastných kyselin ve vzorku N1, Z1 a T1 s koncentrací nad 20 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku



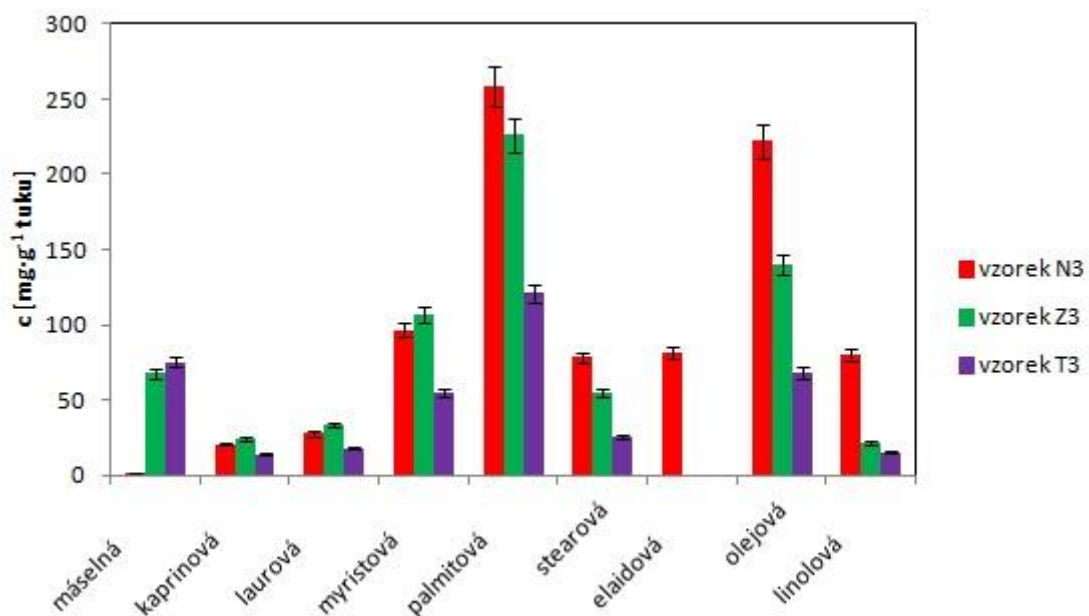
Graf 4.17a: Srovnání obsahů mastných kyselin ve vzorku N2, Z2 a T2 s koncentrací pod 20 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku



Graf 4.17b: Srovnání obsahů mastných kyselin ve vzorku N2, Z2 a T2 s koncentrací nad 20 mg · g⁻¹ tuku



Graf 4.18a: Srovnání obsahů mastných kyselin ve vzorku N3, Z3 a T3 s koncentrací pod 20 mg · g⁻¹ tuku



Graf 4.18b: Srovnání obsahů mastných kyselin ve vzorku N3, Z3 a T3 s koncentrací nad 20 mg · g⁻¹ tuku

5 ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývá monitoringem mastných kyselin v průběhu výroby přírodních sýrů eidamského typu a tavených sýrů. Modelové vzorky byly vyrobeny ve spolupráci s Ústavem technologie potravin na technologické fakultě Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně standardním technologickým postupem. Práce zahrnuje výsledky měření nezralých sýrů okamžitě (resp. 48 hodin) po výrobě, tedy počátek zrání, zralých sýrů, tedy po 2 měsících zrání a tavených sýrů. Celkem byly analyzovány tři série vzorků (výroby); jednotlivé výroby se od sebe lišily použitým pasteračním zahřevem mléka (65 °C, 30 min; 80 °C, 30 s; 74 °C, 30 s) a následně použitým tavicím zahřevem (85 °C, 1 min; 85 °C, 5 min; 85 °C, 10 min).

Pro extrakci lipidů ze vzorků byla použita klasická extrakce směsí diethyletheru a petroletheru podle ČSN EN ISO 1735; pro esterifikaci mastných kyselin metoda podle ČSN EN ISO 5509 s použitím methanolového roztoku hydroxidu draselného. Vzniklé methylestery byly stanoveny pomocí plynové chromatografie s FID detekcí. Použitá metoda je jednoduchá, přiměřeně rychlá, vyžaduje minimální množství vzorku a rozpouštědel.

Celkem bylo ve vzorcích nezralých sýrů identifikováno 34 mastných kyselin; ve vzorcích zralých a tavených sýrů obdobně 23 mastných kyselin. V nejvyšších koncentracích byly nalezeny nasycené kyseliny myristová, palmitová a stearová, z nenasycených kyselina olejová; v mírně nižších koncentracích se pak nacházely kyseliny kapronová, kaprylová, kaprinová a laurová. Všechny tyto jsou považovány za významnou složku mléčného tuku. Polynenasycené kyseliny tvoří velmi nízký podíl v mléčném tuku, ve všech vzorcích však byl nalezen poměrně vysoký obsah kyseliny linolové.

Mezi vzorky byly nalezeny rozdíly jak v počtu identifikovaných mastných kyselin, tak v jejich obsahu, z čehož vyplývá, že aplikovaný pasterační zahřev významným způsobem ovlivňuje složení mastných kyselin ve vzorcích. Nejvyššího pasteračního účinku (nejvyššího tepelného namáhání) bylo dosaženo kombinací 65 °C, 30 min (výroba 1). Podle literatury vyšší pasterační zahřev poškozuje více nenasycené mastné kyseliny, především ty s vyšším počtem dvojných vazeb, které velmi snadno podléhají oxidaci. Z výsledků však nelze určit jednoznačný trend. Při aplikaci v praxi často používané tzv. šetrné pasterace (74 °C 30 s) (výroba 3), kdy dochází naopak k nejmenšímu tepelnému namáhání, bylo složení mastných kyselin podobné jako u vzorků výroby 1, zvláště co se týká kvantitativně nejvýznamnějších kyselin.

Co se týče aplikovaného tavicího zahřevu, nejvyššímu tepelnému namáhání byly vystaveny vzorky z výroby 3 (85 °C, 10 min). V souladu s očekáváním s prodlužující se dobou tavení se snižoval obsah identifikovaných mastných kyselin, zvláště dobře patrný je tento trend opět v případě těch kvantitativně nejvýznamnějších.

Změny v průběhu výroby sýrů/tavených sýrů byly v souladu s naším očekáváním, počet i obsah mastných kyselin většinou klesal v pořadí nezralý sýr – zralý sýr – tavený sýr. Během zrání sýrů sice může dojít k přechodnému nárůstu obsahu některých kyselin v důsledku lipolýzy mléčného tuku, u těchto typů sýrů však (vzhledem k používaným mikrobiálním kulturám) lipolýza není příliš výrazná a dochází k postupnému odbourávání kyselin za tvorby

aromatických sloučenin, nezbytných pro chuť a vůni sýrů. U tavených sýrů došlo opět k poklesu počtu i obsahu mastných kyselin pravděpodobně v důsledku lipolytických a oxidačních změn indukovaných použitou tavicí teplotou.

Výsledky této práce přispívají ke kompletní charakterizaci lipidů v sýrech eidamského typu a jejich potenciálu k využití jako suroviny pro výrobu tavených sýrů. Vzhledem k tomu, že stanovením celkového obsahu mastných kyselin není možné dobře postihnout změny lipidických frakcí, budou následující experimenty zaměřeny především na vývoj a optimalizaci pokud možno jednoduché a rychlé metody stanovení volných mastných kyselin, příp. i ostatních frakcí lipidů.

6 LITERATURA

- [1] CHEESY: Obchod nejen se sýrem. [online]. [citováno 7. 4. 2015]. Dostupné z: <http://www.mujsyr.cz/>
- [2] POVLTAVSKÉ MLÉKÁRNY, [online], [citováno 7. 4. 2015], dostupné z: <http://www.povltavskemlekarny.cz/historie.html>
- [3] BEL: Bel sýry Česko a.s. [online]. [citováno 7. 4. 2015]. Dostupné z: <http://www.belsyry.cz/faqs>
- [4] DRDÁK, M., STUDNICKÝ, J., MÓROVÁ, E., KAROVIČOVÁ, J.: *Základy potravinářských technologií*. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 1996. 512s. ISBN 80967064-1-1
- [5] GAJDŮŠEK, S. *Mlékařství II*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1998. 135 s. ISBN 80-7157-342-6.
- [6] VACOVÁ, Terézia. *Mlieko a mliečne prípravky vo výžive*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1986, 215 s. ISBN 302 05 126.
- [7] KADLEC, Pavel, Karel MELZUCH a Michal VOLDŘICH. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava, 2012, 569 s. ISBN 978-80-7418-145-0.
- [8] Mléko a mléčné výrobky: Eidam. 2014. [online]. [citováno 1. 5. 2015]. Dostupné z: <https://www.stream.cz/jidlo-s-r-o/10004051-mleko-a-mlecne-vyrobyky-4-eidam>
- [9] BUŇKA, F., BUŇKOVÁ, L., KRÁČMAR, S. *Základní principy výroby tavených sýrů: Basic principles of processed cheese production: monografie*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2009. 70 s. ISBN 978-80-7375-336-8.
- [10] ČERNÍKOVÁ, M. *Studium možností snížení obsahu tavicích solí v tavených sýrech: Study of possible reduction of emulsifying agents in processed cheeses: teze disertační práce*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009. 32 s. ISBN 978-80-7318-890-0.
- [11] Vyhláška 397/2016 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje, v platném znění. 2016, 35 s.
- [12] LUKÁŠOVÁ, J. *Hygiena a technologie mléčných výrobků*. 1. vyd. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2001. 180 s. ISBN 80-7305-415-9.
- [13] KADLEC, P. *Technologie potravin II*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2002. 239 s. ISBN 80-708-0510-2.
- [14] BACHMANN, H. P. Cheese analogues: a review. *International Dairy Journal*, 2001, vol. 11, no. 4-7, pp. 505-515. ISSN 0958-6946.
- [15] HUI, Y. H.: 151 Processed Cheese. *Handbook of Food Science, Technology and Engineering*. United States of America: CRC Press, 2006, vol. 4. ISBN 0-8493-9849-5.

- [16] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, xxii, 580 s. ISBN 978-80-86659-17-6.
- [17] ZEHNÁLEK, Josef. *Biochemie 2*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003, 200 s. ISBN 978-80-7157-716-4.
- [18] DOSTÁL, Jiří, Hana PAULOVÁ, Jiří SLANINA a Eva TÁBORSKÁ. *Biochemie: pro posluchače bakalářských oborů*. 1. vyd. Brno: Galén, 2009, 158 s. ISBN 978-80-2105020-4.
- [19] VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie 2: Živý systém jako chemický stroj*. 1. vyd. Praha: Academia, 1992, 136 s. ISBN 80-200-0441-6.
- [20] Fatty acid. [online]. 2008 [cit. 2016-03-10]. Dostupné z WWW: <<http://www.britannica.com/EBchecked/topic/202621/fatty-acid>>
- [21] FENNEMA, O. R. *Food Chemistry*. 3rd edition, 1996. 1096 p. ISBN 0-8247-9691-8.
- [22] BRABCOVÁ, L. *Analogy tavených sýrů*. Bakalářská práce. Brno: Vysoké učení technické, Fakulta chemická, Ústav potravinářské chemie a biotechnologií, 2008, 35 s.
- [23] UHRÍN, V., LAUKOVÁ, A., JANČOVÁ, A., PLINTOVIČ, V. *Mlieko a mliečná žlaza*. Nitra: Fakulta prírodných vied Univerzity Konštantína Filozofa, 2002. 169 s. ISBN 80-8050-511-X.
- [24] CHRISTIE, W. W. *Lipid library* [online]. 2011 [cit. 2016-08-03]. Dostupné z: <http://lipidlibrary.aocs.org/index.html>
- [25] ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÉ EKONOMIKY A INFORMACÍ A VÝZKUMNÝ ÚSTAV POTRAVINÁŘSKÝ PRAHA. *Centrum pro databázi složení potravin: On-line databáze složení potravin ČR, verze 4.13* [online]. 2013. vyd. 2013 [cit. 2016-03-26]. Dostupné z: <http://www.nutridatabase.cz/>
- [26] JANČÁŘOVÁ, Irena a Luděk JANČÁŘ. *Analytická chemie*. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003, 195 s. ISBN 978-80-7157-647-12008.
- [27] JANÍČEK, Gustav, Karel ŠANDERA a Bohuš HAMPL. *Rukověť potravinářské analytiky*. Vyd. 1. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1962, 740 s.
- [28] KUBÁŇ, Vlastimil a Petr KUBÁŇ. *Analýza potravin*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007, 202 s. ISBN 978-80-7375-036-7.
- [29] LUQUE DE CASTRO, M.D. a F. PRIEGO-CAPOTE. Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*. 2010, vol. 1217, issue 16, s. 2383- 2389. DOI: 10.1016/j.chroma.2009.11.027. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967309016884>
- [30] CHURÁČEK, J. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 1. vyd. Český těšín: 2 THETA, 1999. 348 s. ISBN 80-902432-9-0

- [31] AMBROŽOVÁ, J. *Stanovení lipidů a mastných kyselin v řasách*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2011. 115 s. Vedoucí diplomové práce: Ing. Ladislava Mišurcová, Ph.D.
- [32] HÁLKOVÁ, J., RUMÍŠKOVÁ, M., RIEGLOVÁ, J. *Analýza potravin*. 2. vyd. Újezd u Brna: Ivan Straka, 2001. 101 s. ISBN 80-86494-02
- [33] ČSN EN ISO 1735 (57 1007): *Sýry a tavené sýrové výrobky – Stanovení obsahu tuku – Vážková metoda* (Referenční metoda). Praha: Český normalizační institut, 1997, 16 s.
- [34] Mikrowellen-Labortechnik. In: *Microwave assisted extraction* [online]. 1994 [cit. 2016-04-23]. Dostupné z: <http://www.cem.de/documents/pdf/RE/RE014.PDF>
- [35] *Labonline: Microwave-assisted extraction* [online]. 1984 [cit. 2016-04-23]. Dostupné z: <http://www.labonline.com.au/articles/37723-Microwave-assisted-extraction>
- [36] CAZES, Jack. Encyclopedia of chromatography [online]. New York: Marcel Dekker, c2001, xxx, 927 p. [cit. 2016-02-05]. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=3Jeu8rMnbyEC&printsec=frontcover&hl=cs#v=onepage&q&f=false>
- [37] EBELER, Susan E. a John D. EBELER; *SPE methodologies for the separation of lipids*. Inform [online]. 1996, 7(10) [cit. 2016-02-05]. Dostupné z: <http://aocs.files.cmsplus.com/inform/1996/10/1094.pdf>
- [38] RUIZ-GUTIÉRREZ, V a M.C PÉREZ-CAMINO. Update on solid-phase extraction for the analysis of lipid classes and related compounds. *Journal of Chromatography A* [online]. 2000, 885(1-2), 321-341 [cit. 2016-02-08]. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)00181-3. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967300001813>
- [39] SHIBAMOTO, Takayuki. *Lipid chromatographic analysis*. New York: Marcel Dekker, c1994, viii, 412 p. Dostupné také z: <https://books.google.cz/books?id=Wv5NAZev4vAC&printsec=frontcover&hl=cs>
- [40] SPME. In: *Fakulta veterinární hygieny a ekologie* [online]. 2011 [cit. 2014-05-13]. Dostupné z: https://fvhe.vfu.cz/informace-o-fakulte/sekce-ustavy/uvozp/teorie_spme.pdf
- [41] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [42] CHRISTIE, W.W. MRS Lipid Analysis Unit. Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. 2006, vol. 43, issue 3, s. 31.
- [43] *LabPlanet: SPE* [online]. 2005 [cit. 2016-09-01]. Dostupné z: <http://blog.labplanet.com/2013/09/16/spe-2/>
- [44] VOLKA, Karel. *Analytická chemie II*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 1995, 236 s. ISBN 807080-227-8.

- [45] SMOLKOVÁ Eva, FELTL Ladislav. *Analýza látek v plynném stavu*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1991, ISBN 80-03-00604-X.
- [46] SOMMER, L. *Základy analytické chemie 2*. 1. vyd. Brno: VUTIUM, 2000. 347 s. ISBN 80-214-1742-0.
- [47] GUTNIKOV, G. Fatty Acids Profiles of Lipid Samples. *Journal of Chromatography B*. 1995, vol. 671, pp. 71–89. ISSN 1570-0232.
- [48] SEPPÄNEN-LAAKSO, T., Laakso, I., Hiltunen, R. Analysis of Fatty Acids by Gas Chromatography and its Relevance to Research on Health and Nutrition. *Analytica Chimica Acta*. 2002, vol. 465, pp. 39–62.
- [49] EDER, K. Gas Chromatographic Analysis of Fatty Acid Methyl Esters. *Journal of Chromatography B*. 1995, vol. 671, pp. 113–131. ISSN 1570-0232.
- [50] MUBIRU, Edward, Kshitij SHRESTHA, Antonios PAPASTERGIADIS, Bruno DE MEULENAER, T. BAMBA a E. FUKUSAKI. Improved gas chromatography-flame ionization detector analytical method for the analysis of epoxy fatty acids. *Journal of Chromatography A* [online]. 2013, vol. 1318, issue 12, s. 217-225 [cit. 2014-04-27]. DOI: 10.1016/j.chroma.2013.10.025. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967313016257>
- [51] HÁLKOVÁ, Jana. *Analýza potravin*. 2. vyd. Újezd u Brna: Ivan Straka, 2001, 94 s. ISBN 80-864-9402-0.
- [52] The AOCS Lipid Library. CHRISTIE, W. *GAS CHROMATOGRAPHY AND LIPIDS* [online]. 1989, 2011 [cit. 2016-04-22]. Dostupné z: http://lipidlibrary.aocs.org/GC_lipid/04_deriv/index.htm
- [53] SHANTHA, N.C. *Journal of chromatofraphy*. Gas chromatography of fatty acids. 1992, č. 624.
- [54] CHURÁČEK, Jaroslav. *Analytická chemie II*. 1. vyd. Pardubice: VŠCHT, 1983, 189 s.
- [55] ZÝKA, Jaroslav. *Analytická příručka*. 3. přeprac. a rozš. vyd. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1979, 678.
- [56] GARCÍA, Patricia, Pilar FRANCO, Rosana ÁLVAREZ a Ángel R. DE LERA. Separation of regioisomers and enantiomers of underivatized saturated and unsaturated fatty acid monoacylglycerols using enantioselective HPLC. *Journal of Separation Science* [online]. 2011, vol. 34, issue 9, s. 999-1003 [cit. 2016-05-07]. DOI: 10.1002/jssc.201000833. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jssc.201000833>
- [57] MAREKOV, Ilko, Svetlana PANAYOTOVA a Roumyana TARANDJIISKA. Fatty Acid Composition and Seasonal Variation of trans Fatty Acid Content in Bulgarian Butter Fats by Silver Ion TLC and GC. *Journal of Liquid Chromatography* [online]. 2017-04-20, vol. 32, issue 9, s. 1183-1195 [cit. 2014-05-07]. DOI: 10.1080/10826070902858160. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10826070902858160>

- [58] WITMAN, Gary a Mark MOSKOVITZ. Thin Layer Chromatography in the Purification of Lipids. In: *Dynamic Adsorbents* [online]. 2005 [cit. 2016-05-11]. Dostupné <http://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&ved=0CEkQFjAD&url=http%3A%2F%2Fwww.dynamicadsorbents.com%2Fchromatographylipids.doc&ei=Br9vU4nSL9LQ4QSn5IF4&usg=AFQjCNGMFsC2hnxXMNcGIjxsi1GAWeN7Pw&bvm=bv.66330100,d.bGQ>
- [59] ROGINSKI, H. *Encyclopedia od Dairy science*. Londýn: Academic Press, 2003. 2799 s. ISBN 0-12-227235-8.
- [60] PRUKNEROVÁ, K. *Stanovení mastných kyselin v tavených sýrech*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2014. 80 s. Vedoucí diplomové práce: Ing. Eva Vítová, Ph.D.
- [61] ČSN EN ISO 5509 (588767): *Živočišné a rostlinné tuky a oleje – Příprava methylesterů mastných kyselin*. Praha: Český normalizační institut, 2001, 40 s.
- [62] MYHER, J. J., KUKSIS, A. General Strategies in Chromatographic Analysis of Lipids. *Journal of Chromatography B*. 1995, vol. 671, pp. 3–33. ISSN 1570-0232.
- [63] WIJESUNDERA, C, L DRURY a T WALSH. Determination of free fatty acids and lactones in cheese by solid phase microextraction (SPME). *Australian Journal of Dairy Technology* [online]. 1998, vol. 53, issue 2 [cit. 2016-05-10]. Dostupné z: <http://search.proquest.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/docview/199495906?accountid=17115>
- [64] TUOMALA, Terhi a Heikki KALLIO. Identification of free fatty acids and some other volatile flavour compounds from Swiss cheese using on-line supercritical fluid extraction-gas chromatography. *Zeitschrift for Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* [online]. 1996, vol. 203, issue 3, s. 236-240 [cit. 2016-05-07]. DOI: 10.1007/BF01192870.
- [65] AMER, Bashar, Caroline NEBEL, Hanne C. BERTRAM, Grith MORTENSEN, Kjeld HERMANSEN a Trine K. DALSGAARD. Novel method for quantification of individual free fatty acids in milk using an in-solution derivatisation approach and gas chromatography-mass spectrometry. *International Dairy Journal* [online]. 2013, vol. 32, issue 2, s. 199-203 [cit. 2016-05-08]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2013.05.016. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694613001489>
- [66] MANNION, David T. et al., Comparison and validation of 2 analytical methods for the determination of free fatty acids in dairy products by gas chromatography with flame ionization detection. *Journal of Dairy Science*, Volume 99, Issue 7, 5047 - 5063
- [67] HAUFF, Simone a Walter VETTER. Analytica Chimica Acta: Quantification of fatty acids as methyl esters and phospholipids in cheese samples after separation of triacylglycerides and phospholipids. *Analytica Chimica Acta*. 2009, 636(2), 229–235.
- [68] KIM Ha, J. et al.; Method for the Quantitative Analysis of Volatile Free and Total Branched-Chain Fatty Acids in Cheese and Milk Fat¹. *Journal of Dairy Science*. Volume 73, Issue 8, 1988 - 1999

- [69] WEI, Gao-Ling a Eddy Y. ZENG. Gas chromatography-mass spectrometry and high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry in quantifying fatty acids . 2011, 30(9), 1429–1436.
- [70] Yuanyuan Yan a kol.. Combined urea-thin layer chromatography and silver nitrate-thin layer chromatography for micro separation and determination of hard-to-detect branched chain fatty acids in natural lipids. *Journal of Chromatography A*. 2015, 1425(1), 293–301.
- [71] RODRÍGUEZ-CASTAÑEDAS, José Luis a kol.. Quantitative determination of conjugated linoleic acid isomers by silver ion HPLC in ewe milk fat. *Journal of Food Composition and Analysis* t. 2011, 24(7), 1004–1008.
- [72] PINHO, O., I. M. P. L. V. O. FERREIRA a M. A. FERREIRA. Solid-Phase Microextraction in Combination with GC/MS for Quantification of the Major Volatile Free Fatty Acids in Ewe Cheese. *Analytical Chemistry*. 2002, 74(20), 5199-5204. DOI: 10.1021/ac020296m. ISSN 0003-2700. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac020296m>
- [73] HAUFF, Simone a Walter VETTER. Quantification of Branched Chain Fatty Acids in Polar and Neutral Lipids of Cheese and Fish Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010, 58(2), 707-712. DOI: 10.1021/jf9034805. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf9034805>
- [74] GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A.F., & Vallejo-Cordoba, B. Quantitative determination of short-chain free fatty acids in milk using solid-phase microextraction and gas chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(10), 4603-4608. Dostupné také z: <https://search.proquest.com/docview/72199291?accountid=17115>
- [75] ŘEZANKA, Tomáš. Two-dimensional separation of fatty acids by thin-layer chromatography on urea and silver nitrate silica gel plates. *Journal of Chromatography A*. 1996, 727(1), 147-152.
- [76] HENG Hui Gan a kol.. Development and validation of an APCI-MS/GC–MS approach for the classification and prediction of Cheddar cheese maturity. *Food Chemistry*. 2016, 190(1), 442–447.
- [77] RYGLOVÁ, H., *Stanovení aromaticky aktivních látek v sýrech*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 48ms. Vedoucí bakalářské práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

FID – plamenově ionizační detektor

GC – plynová chromatografie

WCOT – kolona s tenkým filmem stacionární fáze nanesené přímo na vnitřní stěně kapiláry

SCOT – kolona se stacionární fází zachycenou na povrchu pevného nosiče na vnitřní stěně kapiláry

PLOT – kapiláry, jejichž vnitřním povrchem je vrstva pevného aktivního sorbentu

MEMK – methylestery mastných kyselin

MK – mastné kyseliny

t.v.s. – tuku v sušině

SFA – nasycené mastné kyseliny

MUFA – mononenasycené mastné kyseliny

PUFA – polynenasycené mastné kyseliny

MS – hmotnostní spektrometrie

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

LLC – kapalinová rozdělovací chromatografie

LSC – kapalinová adsorpční chromatografie

TLC – tenkovrstvá chromatografie

SPE – extrakce na pevné fázi

GPC – gelově permeační chromatografie

MS2 – tandemová hmotnostní spektrometrie

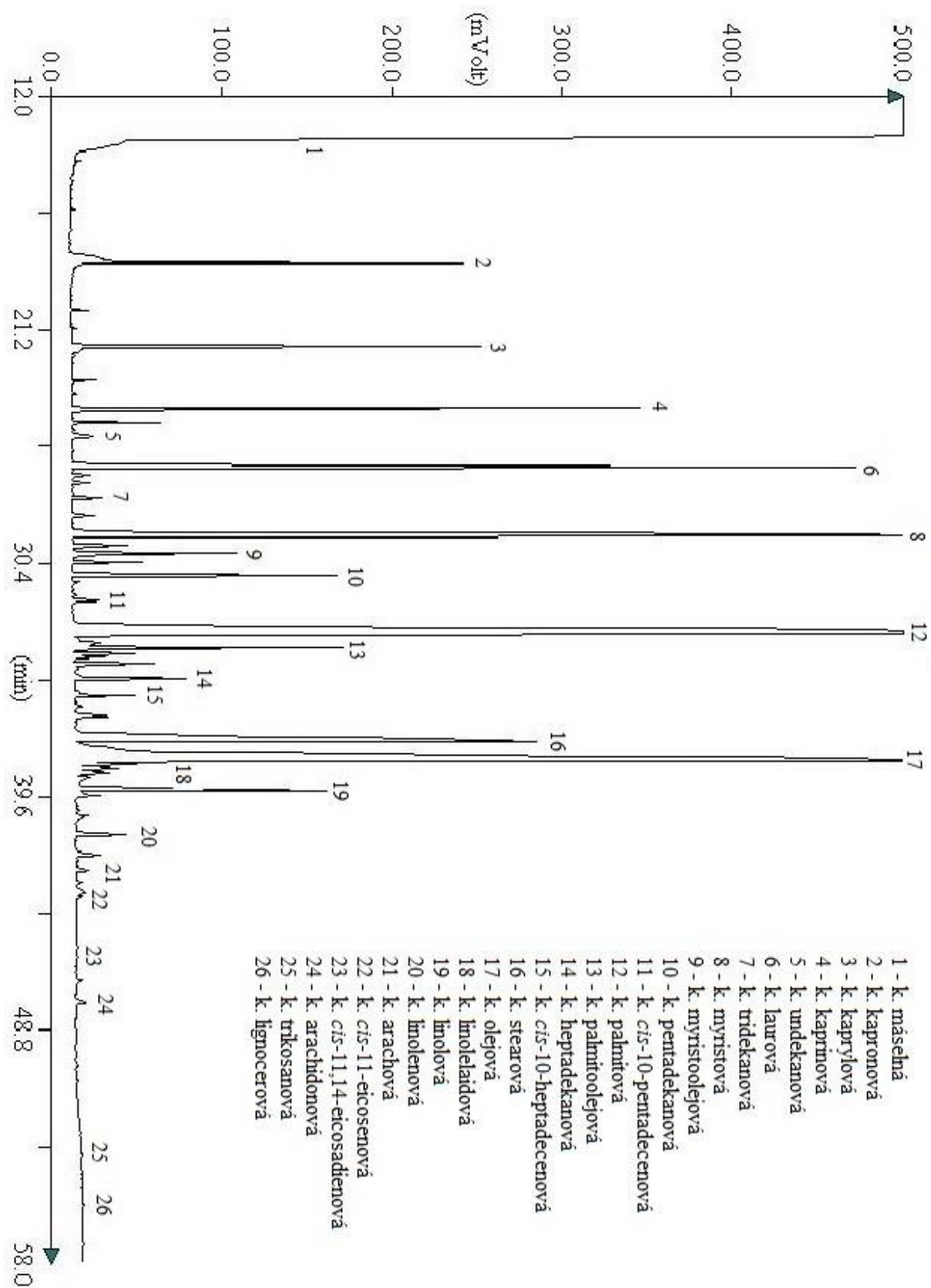
APCI - MS – hmotnostní spektrometrie s chemickou ionizací

EI - MS – elektronově ionizační hmotnostní spektrometrie

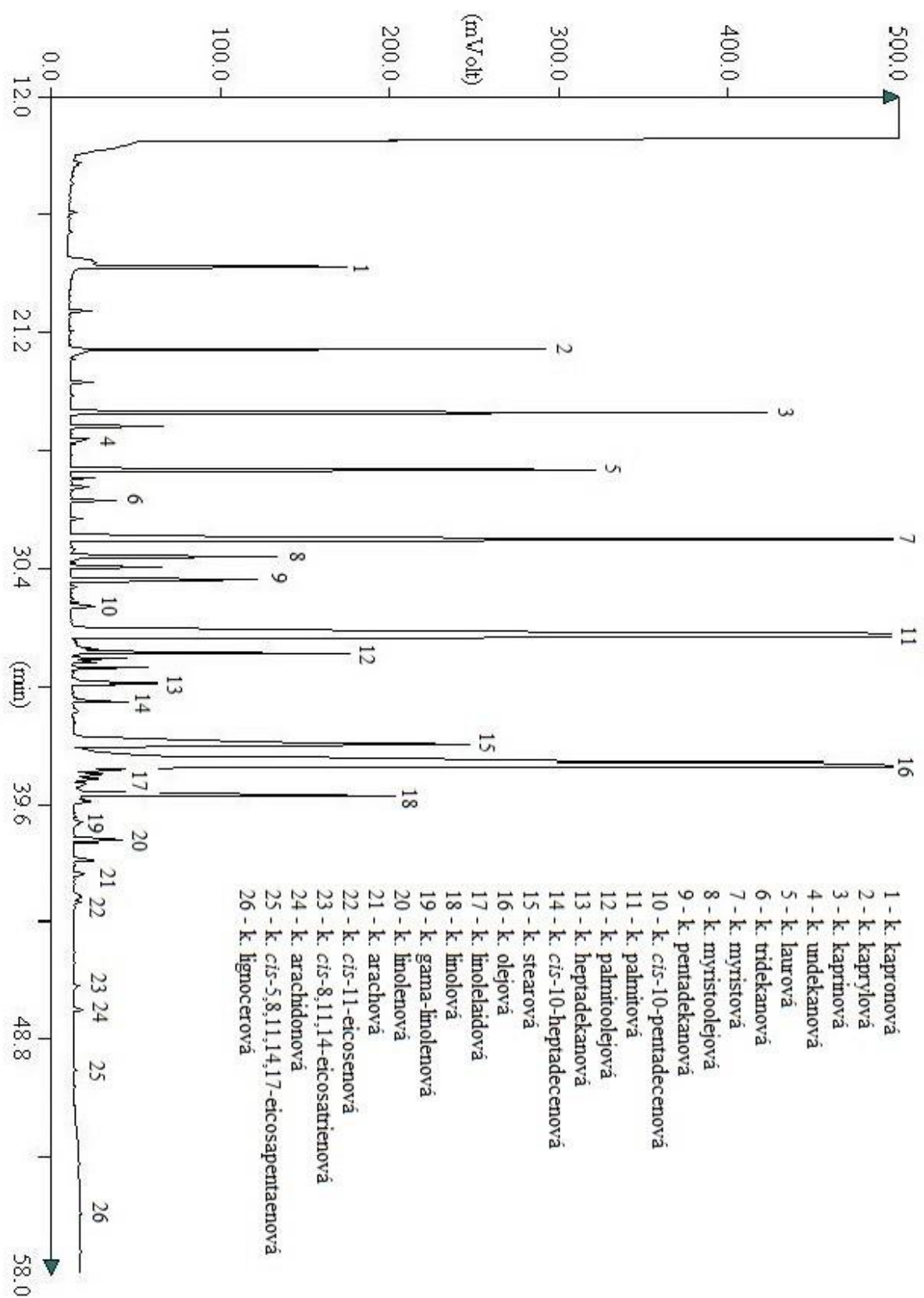
VMK – volné mastné kyseliny

8 SEZNAM PŘÍLOH

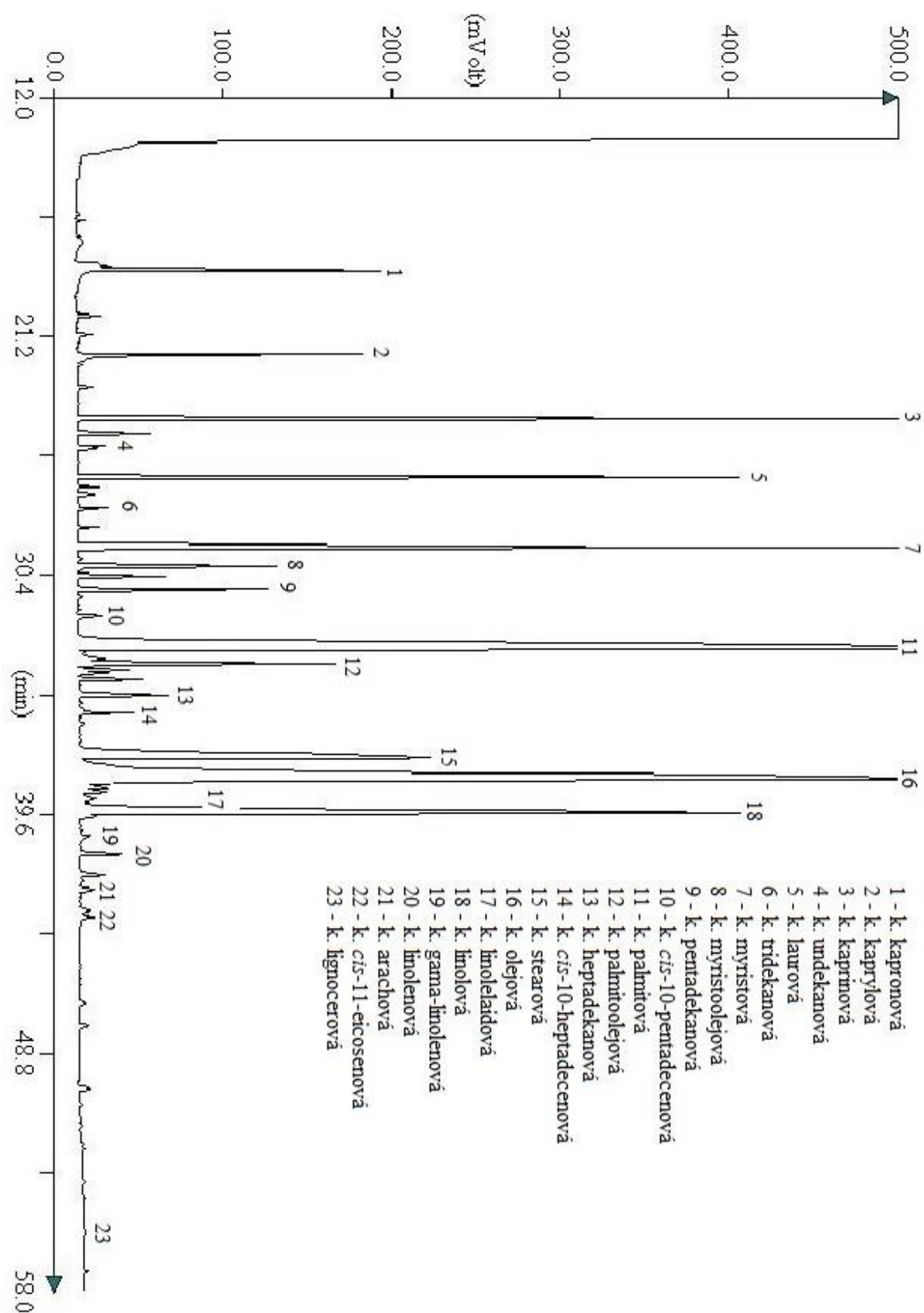
Příloha 1	Ukázka chromatogramu vzorku N1 (pasterační záhřev 65 °C/30 min)
Příloha 2	Ukázka chromatogramu vzorku N2 (pasterační záhřev 80 °C/30 s)
Příloha 3	Ukázka chromatogramu vzorku N3 (pasterační záhřev 74 °C/30 s)
Příloha 4	Ukázka chromatogramu vzorku Z1 (pasterační záhřev 65 °C/30 min)
Příloha 5	Ukázka chromatogramu vzorku Z2 (pasterační záhřev 80 °C/30 s)
Příloha 6	Ukázka chromatogramu vzorku Z3 (pasterační záhřev 74 °C/30 s)
Příloha 7	Ukázka chromatogramu vzorku T1 (tavení 85 °C/1 min)
Příloha 7	Ukázka chromatogramu vzorku T2 (tavení 85 °C/5 min)
Příloha 7	Ukázka chromatogramu vzorku T3 (tavení 85 °C/10 min)



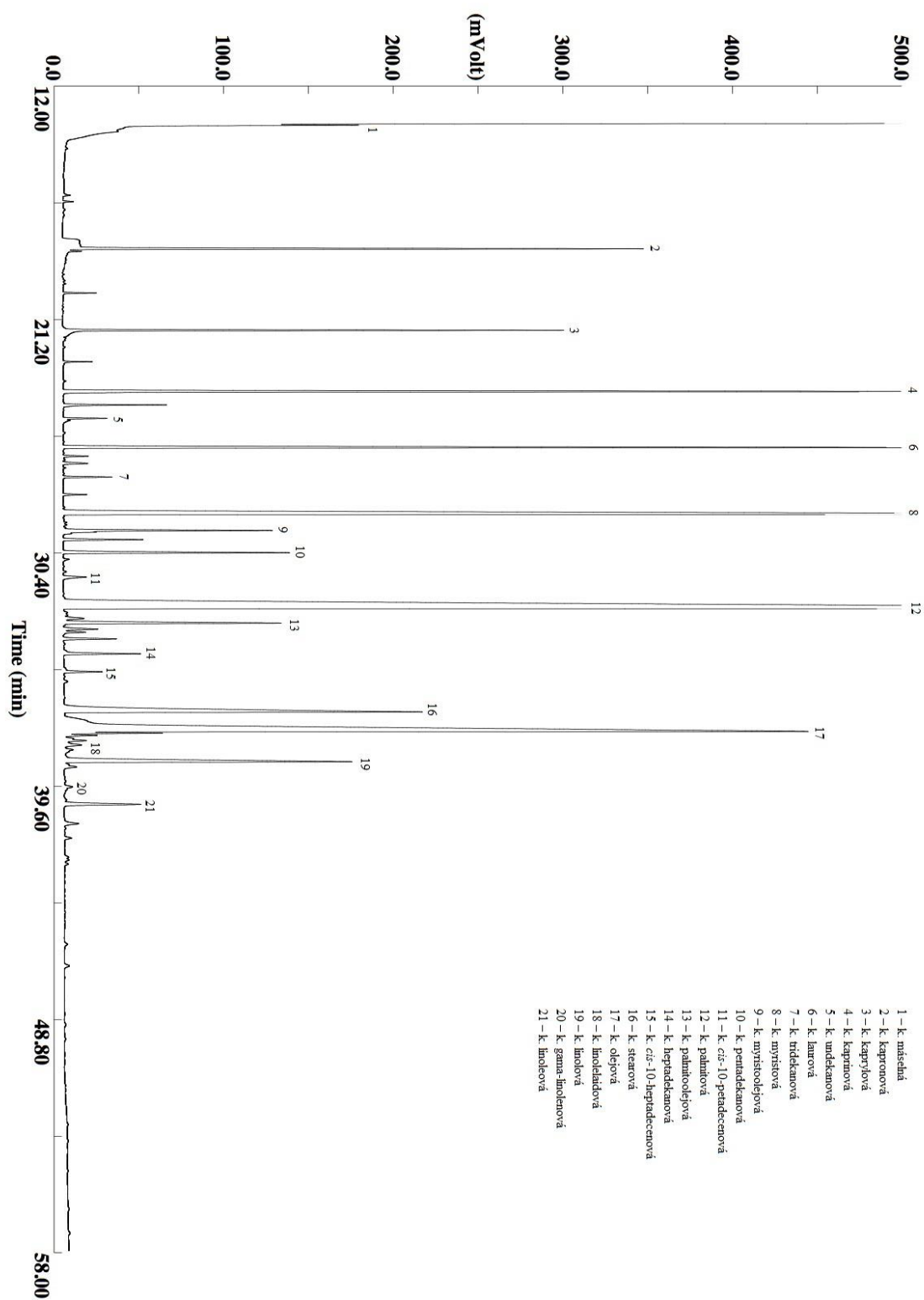
Příloha 1: Ukázka chromatogramu vzorku N1 (pasterační záhřev 65 °C/30 min)



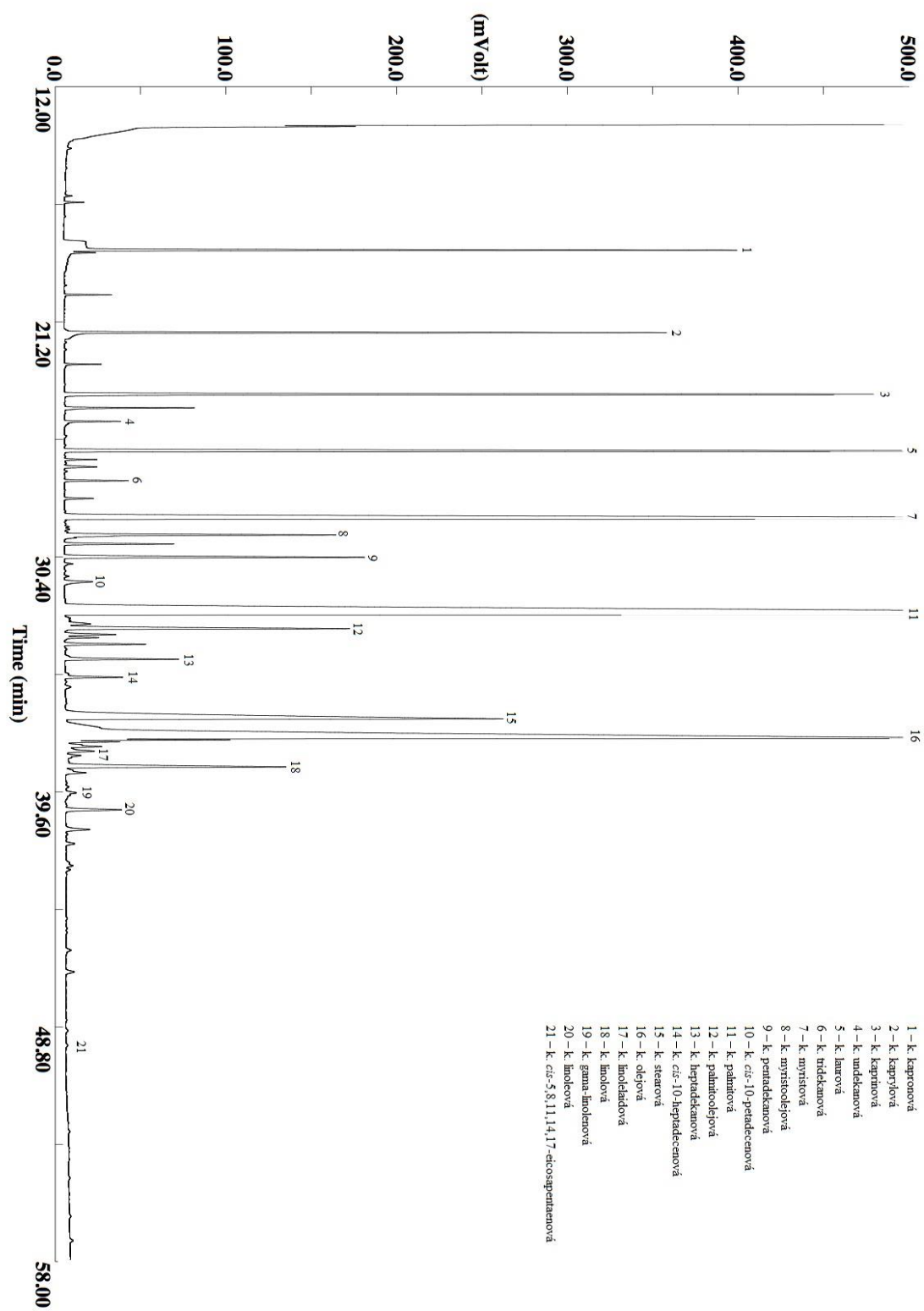
Příloha 2: Ukázka chromatogramu vzorku N2 (pasterační záhřev 80 °C/30 s)



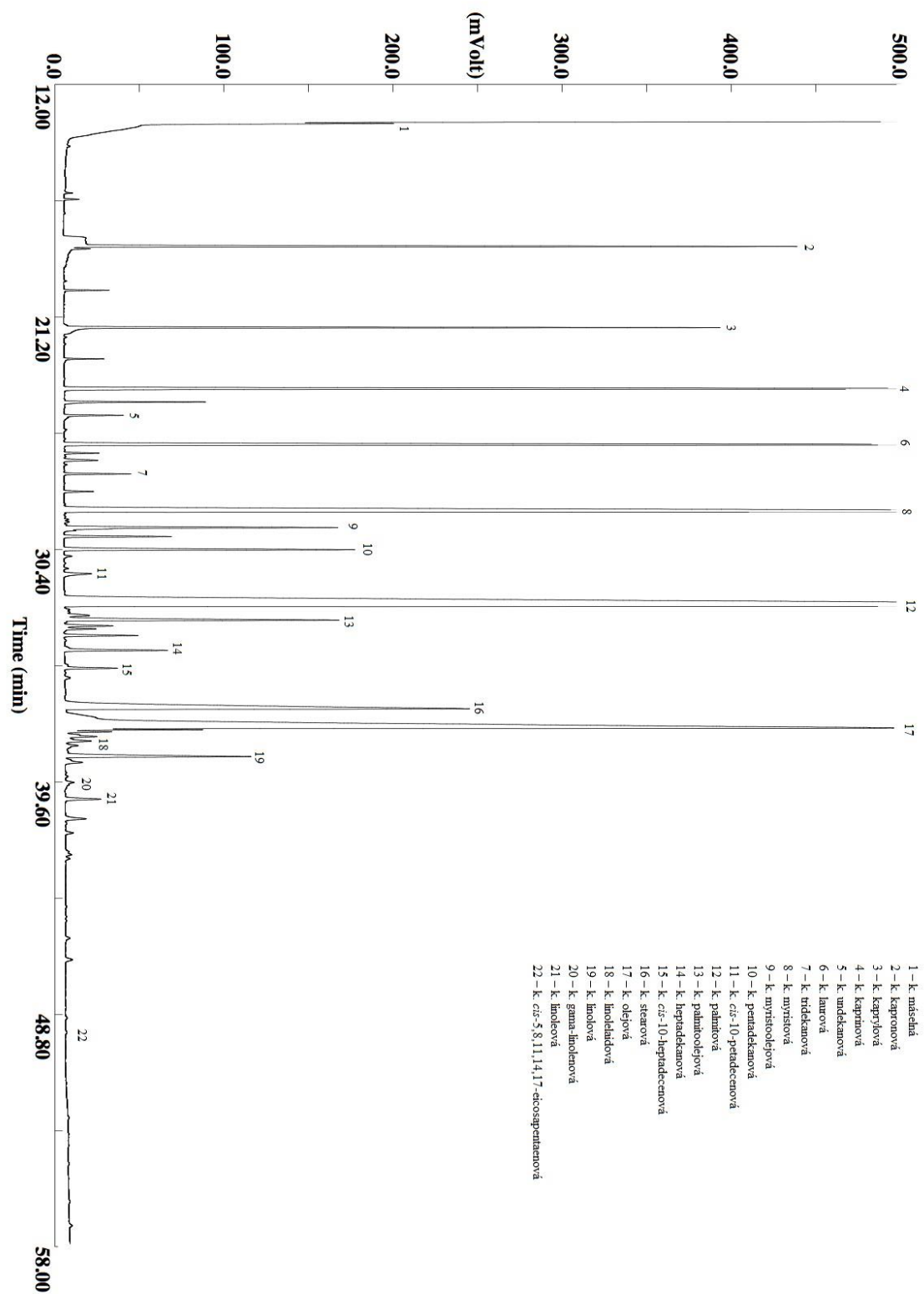
Příloha 3: Ukázka chromatogramu vzorku N3 (pasterační záhřev 74 °C/30 s)



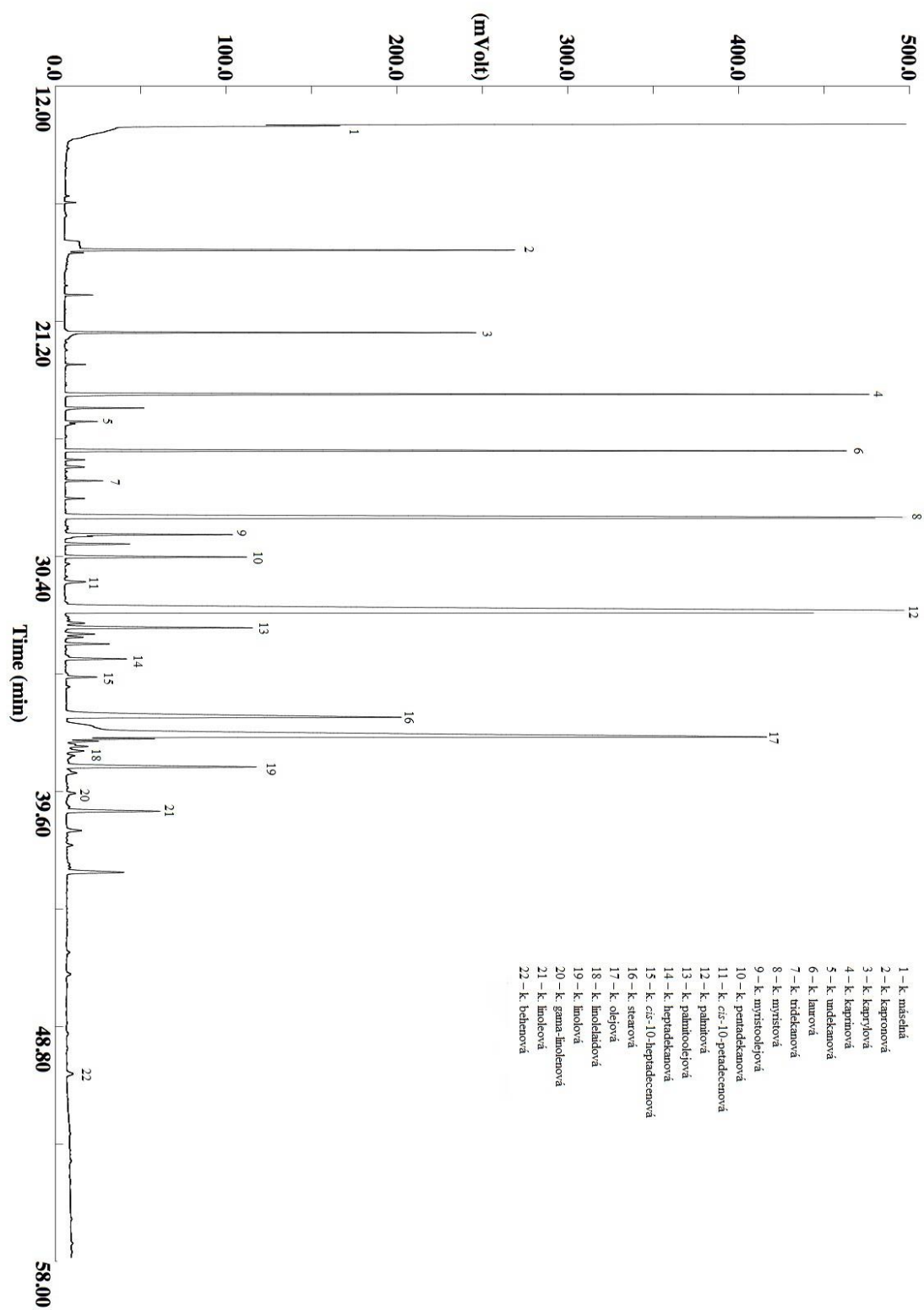
Příloha 4: Ukázka chromatogramu vzorku Z1 (pasterační záhřev 65 °C/30 min)



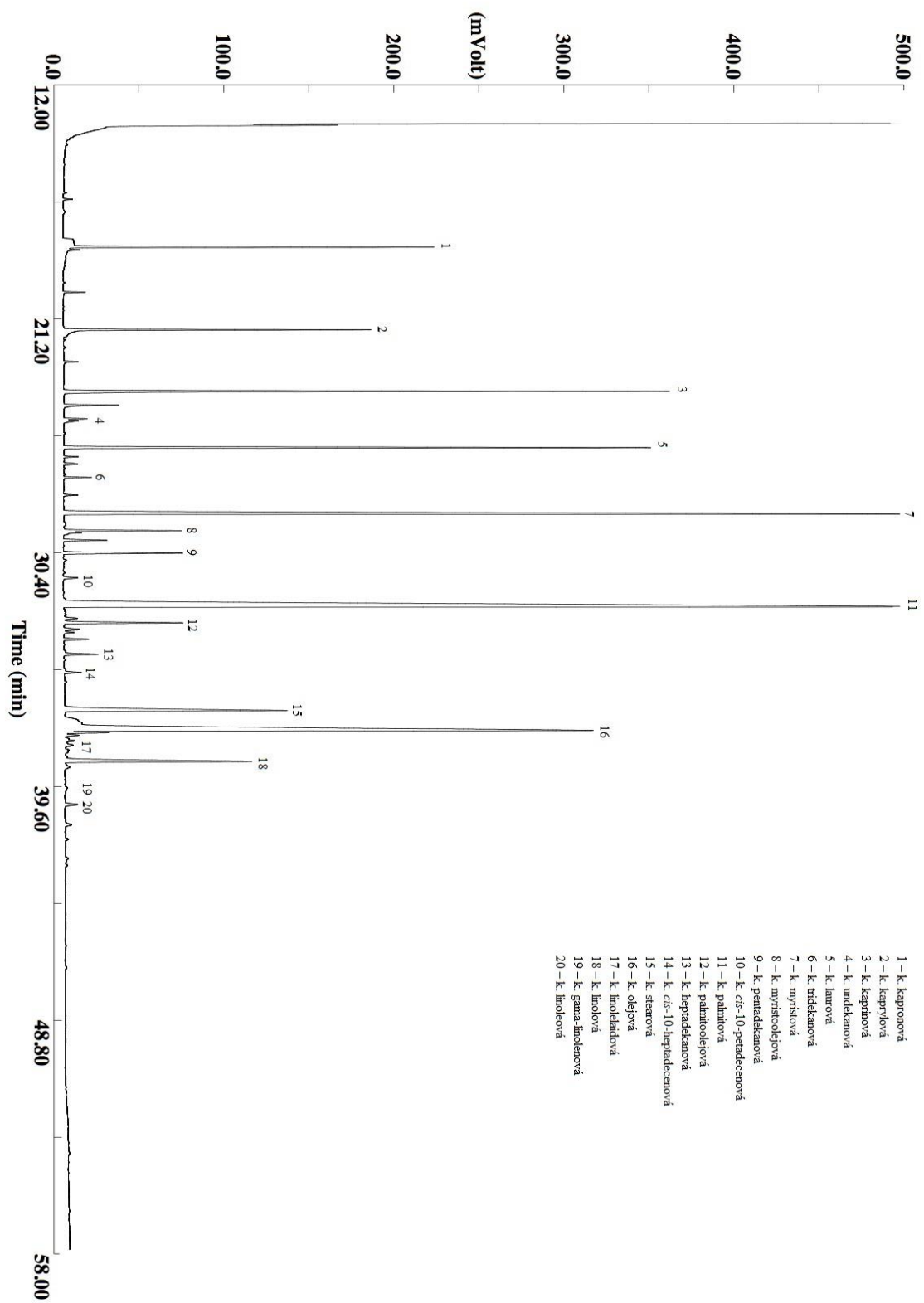
Příloha 5: Ukázka chromatogramu vzorku Z2 (pasterační záhřev 80 °C/30 s)



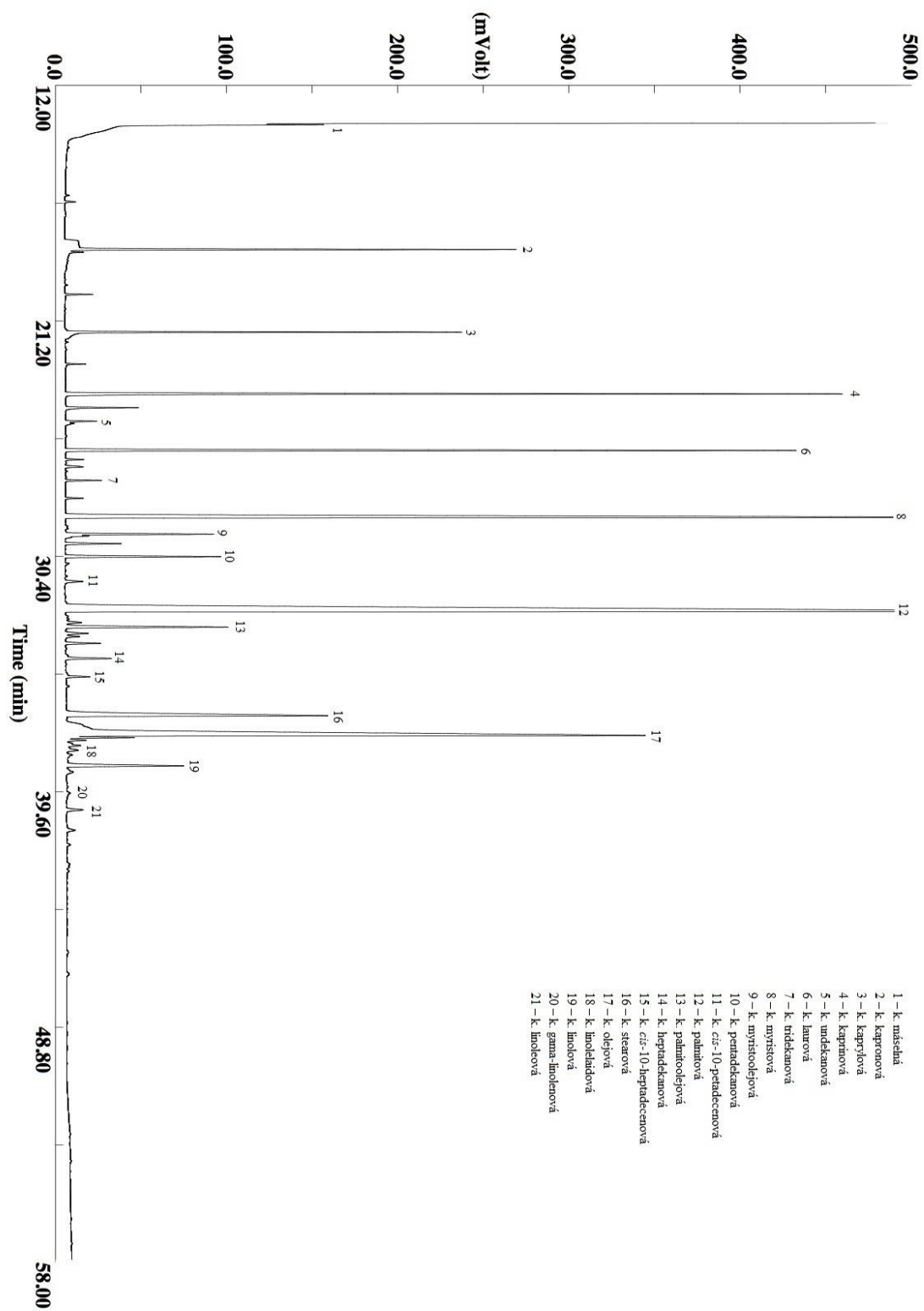
Příloha 6: Ukázka chromatogramu vzorku Z3 (pasterační záhřev 74 °C/30 s)



Příloha 7: Ukázka chromatogramu vzorku T1 (tavení 85 °C/1 min)



Příloha 8: Ukázka chromatogramu vzorku T2 (tavení 85 °C/5 min)



Příloha 9: Ukázka chromatogramu vzorku T3 (tavení 85 °C/10 min)